



IMPERIAL INSTITUTE
OF
AGRICULTURAL RESEARCH, PUSA.

LANTBRUKSHÖGSKOLANS ANNALER

VOL. 7. 1939

LANTBRUKS- HÖGSKOLANS ANNALER

ANNALS OF THE AGRICULTURAL COLLEGE OF SWEDEN

ANNALEN DER
LANDWIRTSCHAFTLICHEN HOCHSCHULE SCHWEDENS

ANNALES
DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE D'AGRICULTURE DE LA SUÈDE



VOL. 7

Uppsala 1939

UPPSALA 1939

ALMQVIST & WIKSELLS BOKTRYCKERI-A.-B.

38895

INNEHÅLL

	Sid.
AXELSSON, JOEL: Die Wachstumsverhältnisse des Jungviehs in zwei Beständen von schwedischem rotem und weissem Rindvieh. (Med svensk sammanfattning) .	1
GELIN, OLOV E. V.: Variation in the Length of the Ascospores in <i>Plectania protracta</i> (Fr.) Gelin and <i>Plectania coccinea</i> (Scop.) Fuckel. (Med svensk sammanfattning)	41
NILSSON, RAGNAR, BJÄLFVE, G., und BURSTRÖM, DAGMAR: Über Zuwachsfaktoren bei <i>Bact. radicicola</i> . III. (Med svensk sammanfattning)	51
BORATYŃSKI, KAZIMIERZ, and MATTSON, SANTE: The Electro-Chemistry of Soil Formation: III. The Humate Complex. (Med svensk sammanfattning)	63
BARTHEL, CHR., and BENGTTSSON, N.: To what Extent can Cellulose-decomposing Microorganisms Utilize the Protein Nitrogen in Stable Manure? (Med svensk sammanfattning)	121
WESTERLUND, A.: The Metabolic Behaviour of Phosphorus. Balance Sheets of Phosphorus in Full-grown Rats Fed with Tri-stearine and Ammonium Phosphate. (Med svensk sammanfattning)	131
TORSTENSSON, G., ERIKSSON, SIGURD, und WIKLANDER, LAMBERT: Über Fluoreszenz der Gytjtjåböden. (Med svensk sammanfattning)	155

HEILBORN, OTTO: Pollen Tube Growth in Apple Styles after inter-varietal Cross-pollination. (Med svensk sammanfattning)	171
MATTSON, SANTE, and LÖNNEMARK, HENNING: The Pedomorphology of Hydrologic Podzol Series: I. Loss on Ignition, pH and Amphoteric Reactions. (Med svensk resumé)	185
WESTERLUND, A.: The Metabolic Behaviour of Phosphorus. II. Balance Sheets of Phosphorus in Full-grown Rats Fed with Tri-stearine and Sodium Phosphate. (Med svensk sammanfattning)	229
BURSTRÖM, HANS: Über die Aufnahme und Assimilation von Nitrat durch Weizenkeimlinge. (Med svensk sammanfattning)	247
BJÄLFVE, G., NILSSON, RAGNAR, und BURSTRÖM, DAGMAR: Über Zuwachsfaktoren bei <i>Bact. radicicola</i> . IV. (Med svensk sammanfattning)	291
NILSSON, RAGNAR, BJÄLFVE, G., und BURSTRÖM, DAGMAR: Über Zuwachsfaktoren bei <i>Bact. radicicola</i> . V. (Med svensk sammanfattning)	301

Die Wachstumsverhältnisse des Jungviehs in zwei Beständen von schwedischem rotem und weissem Rindvieh.

Von JOEL AXELSSON.

Aus dem Institut für Haustierfütterung.

1. Einleitung.

Obgleich die Wachstumsverhältnisse des Jungviehs nicht bloss theoretisch von Interesse sind, sondern auch grosse praktische Bedeutung besitzen, ist unsere Kenntnis von ihnen sehr mangelhaft, was vor allem darauf beruht, dass nur wenige Untersuchungen auf diesem Gebiet gemacht worden sind. Besonders betrifft diese Unkenntnis die Kräfte endogener Natur, die das Wachstum und die Entwicklung des Jungviehs bedingen. Um dem genannten Mangel etwas abzuhelpen, habe ich eine besondere Bearbeitung eines Materials vorgenommen, das bei einer von Prof. L. NANNESON in den Jahren 1927—32 ausgeführten Kontrolle des Futtermittelsverbrauchs und des Wachstums des Jungviehs erhalten wurde. Die Kontrolle fand auf den Gütern Ultuna und Kilagården statt, deren Bestände dem schwedischen roten und weissen Rindvieh angehören. Das Primärmaterial wurde von mir übernommen und in den Jahren 1935—38 bearbeitet. Der grössere Teil der Untersuchung wird als Mitteilung von Kungl. Lantbruksstyrelsen, Stockholm, veröffentlicht werden. Diese enthält einen Bericht über den Futtermittelsverbrauch und das Wachstum des gesamten Jungviehs. Dabei werden vor allem Fragen behandelt, welche für die

praktische Aufzucht des Jungviehs von besonderem Interesse sind.

Wenn es sich darum handelt, die auf das Lebendgewicht des Jungviehs in verschiedenem Alter und auf das Wachstum während verschiedener Perioden der Wachstumszeit einwirkenden Verhältnisse genauer zu ermitteln, muss die Untersuchung auf ein und dieselbe Population beschränkt werden, deren Entwicklung sich von der Geburt bis zum ausgewachsenen Stadium verfolgen lässt. In dem vorliegenden Material war die Anzahl der männlichen Tiere zu gering für eine solche Untersuchung, weshalb dieselbe auf die weiblichen Tiere beschränkt wurde. Von diesen wurden sowohl in Ultuna als in Kilagården die Tiere ausgewählt, die der Kontrolle von der Geburt bis zum Alter von 30 Monaten unterstanden hatten. Die Anzahl dieser Tiere betrug in Ultuna 102 und in Kilagården 21.

Für jedes dieser weiblichen Tiere wurde eine graphische Ausgleichung der bei der Kontrolle erhaltenen Gewichte vorgenommen, wodurch diese soweit möglich von zufälligen Störungen befreit wurden. In erster Linie wurden dabei die Fehlwägungen ausgeschaltet, die bei einer Kontrolle wie dieser unvermeidlich waren. Ausserdem wurden die Störungen eliminiert, die der Übergang von Stallfütterung zu Weidegang im Frühjahr sowie von Weide zu Stallfütterung im Herbst verursacht hatte. Jede Gewichtskurve bekam hierdurch einen so regelmässigen und systematischen Verlauf, dass sie als charakteristisch für die Entwicklung des betreffenden Tieres angesehen werden konnte. Als Beispiel für das dabei befolgte Verfahren ist in Fig. 1 für die Färse 807, geboren in Ultuna am 5. April 1928, teils die nach den Wägungsergebnissen erhaltene Gewichtskurve, teils die sich nach Ausgleichung der Gewichte ergebende eingetragen. Auf der Figur ist die Zeit des Weideganges während jedes Jahres angegeben.

Hieraus geht hervor, dass seit dem zweiten Sommer einschliesslich, wo kein Zuschussfutter mehr während des Weideganges gegeben wurde, ein bedeutender Gewichtsverlust beim Übergang zur Weide eingetreten ist. In gewissen Fällen er-

folgte ausserdem während des letzten Teiles der Weideperiode ein Rückgang des Lebendgewichtes, wie gleichfalls aus der Figur ersichtlich ist. Diese Gewichts- und Wachstumsstörungen, die eingehend in der erwähnten Mitteilung behandelt werden, sind durch die vorgenommene Ausgleichung eliminiert, wie sich näher aus der Figur ergibt. Nach der Ausgleichung wurde

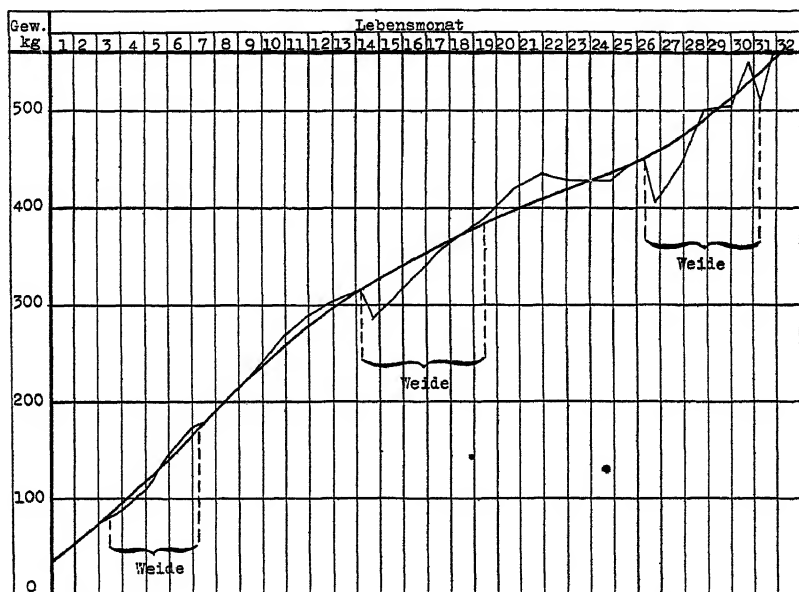


Fig. 1. Beispiel graphischer Ausgleichung der Gewichtsangaben für die weiblichen Tiere.

das Gewicht am Anfang und Ende jedes Halbjahrs graphisch bestimmt, wodurch für jedes Tier sechs Gewichte erhalten wurden.

2. Das Gewicht in verschiedenem Alter.

Die für die Ultuna-Tiere bei verschiedenem Alter erhaltenen Verteilungen nach dem ausgeglichenen Gewicht sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Die Verteilungen für die weiblichen Tiere in Ultuna nach dem Gewicht in verschiedenem • Alter.

0 Monate		6 Monate		12 Monate		18 Monate		24 Monate		30 Monate	
Gew., kg	Anzahl	Gew., kg	Anzahl	Gew., kg	Anzahl	Gew., kg	Anzahl	Gew., kg	Anzahl	Gew., kg	Anzahl
22—24	1	118—130	3	211—225	2	290—306	2	343—361	2	400—420	3
25—27	2	131—143	6	226—240	5	307—323	6	362—380	2	421—441	3
28—30	8	144—156	10	241—255	11	324—340	12	381—399	8	442—462	13
31—33	19	157—169	26	256—270	21	341—357	25	400—418	9	463—483	17
34—36	40	170—182	32	271—285	20	358—374	21	419—437	29	484—504	16
37—39	23	183—195	15	286—300	21	375—391	18	438—456	14	505—525	20
40—42	7	196—208	8	301—315	16	392—408	15	457—475	20	526—546	15
43—45	2	209—221	1	316—330	5	409—425	1	476—494	6	547—567	10
		222—234	1	331—345	1	426—442	2	495—513	2	568—588	5

Hieraus ergibt sich, dass gewisse Kälber bei der Geburt ungefähr doppelt so viel wogen wie andere. Mit zunehmendem Alter nahm das Verhältnis zwischen dem Gewicht der schwersten und der leichtesten Tiere immer mehr ab. Dies ergibt sich jedoch deutlicher aus den Variationskoeffizienten, welche nebst den Charakteristika der Verteilungen in der folgenden Zusammenstellung enthalten sind.

Alter der Tiere	Die Gewichtsverteilungen in Ultuna		
	$M \pm \varepsilon (M)$	$\sigma \pm \varepsilon (\sigma)$	$V \pm \varepsilon (V)$
0 Monate	$34,9 \pm 0,36$ kg	$3,6 \pm 0,25$ kg	$10,3 \pm 0,72$
6 "	$171 \pm 1,88$ "	$19,0 \pm 1,33$ "	$11,1 \pm 0,78$
12 "	$279 \pm 2,46$ "	$24,8 \pm 1,74$ "	$8,9 \pm 0,62$
18 "	$363 \pm 2,72$ "	$27,5 \pm 1,93$ "	$7,6 \pm 0,53$
24 "	$434 \pm 3,02$ "	$30,5 \pm 2,14$ "	$7,0 \pm 0,49$
30 "	$502 \pm 3,97$ "	$40,1 \pm 2,81$ "	$8,0 \pm 0,56$

Das Geburtsgewicht der Kälber war hiernach $34,9 \pm 0,36$ kg. Im Alter von 6 Monaten betrug das Gewicht dagegen $171 \pm 1,88$ kg, so dass also während des ersten Halbjahrs die Gewichtszunahme sehr rasch fortgeschritten ist. Im Alter von 30 Monaten betrug das Gewicht $502 \pm 3,97$ kg. Während der Zeit von der Geburt bis zum Alter von 30 Monaten stieg der mittlere Fehler der Verteilungen von $3,6 \pm 0,25$ kg auf $40,1 \pm 2,81$ kg, also eine sehr bedeutende Zunahme. Der Variationskoeffizient, der bei der Geburt $10,3 \pm 0,72$ betrug, erhöhte sich während des ersten Halbjahrs auf $11,1 \pm 0,78$, worauf ein Rückgang eintrat, der sich bis zum Alter von 24 Monaten fortsetzte, wo der Wert nur $7,0 \pm 0,49$ betrug. Nach dieser Zeit begann in gewissen Fällen die Trächtigkeit auf das Lebendgewicht der Tiere einzuwirken, so dass der Koeffizient im Alter von 30 Monaten den Wert $8,0 \pm 0,56$ hatte. Diese Resultate deuten an, dass die Gewichtsvariation im ersten Teil des Lebens zunahm, während danach eine Abnahme erfolgte, bis sich der Einfluss der Trächtigkeit geltend zu machen begann. Die zu-

nehmende Variation während des ersten Teiles des Lebens scheint auf der während dieser Zeit eintretenden Verschiedenheit der Wachstumsgeschwindigkeit zu beruhen.

Die Anzahl der Tiere von Kilagården war so gering, dass bei Behandlung des Gewichts keine Klasseneinteilung möglich war. Die erhaltenen Charakteristika und die Variationskoeffizienten waren folgende.

Alter der Tiere	Die Gewichtsverteilungen in Kilagården		
	$M \pm \varepsilon (M)$	$\sigma \pm \varepsilon (\sigma)$	$V \pm \varepsilon (V)$
0 Monate	$31,5 \pm 0,47 \text{ kg}$	$2,2 \pm 0,34 \text{ kg}$	$7,0 \pm 1,08$
6 "	$145 \pm 2,59 \text{ "}$	$11,9 \pm 1,88 \text{ "}$	$8,2 \pm 1,27$
12 "	$240 \pm 3,57 \text{ "}$	$16,4 \pm 2,58 \text{ "}$	$6,8 \pm 1,05$
18 "	$316 \pm 4,20 \text{ "}$	$19,2 \pm 2,97 \text{ "}$	$6,1 \pm 0,94$
24 "	$386 \pm 5,94 \text{ "}$	$27,2 \pm 4,20 \text{ "}$	$7,0 \pm 1,08$
30 "	$455 \pm 8,15 \text{ "}$	$37,3 \pm 5,76 \text{ "}$	$8,2 \pm 1,27$

In Kilagården betrug also das Geburtsgewicht der Kälber $31,5 \pm 0,47 \text{ kg}$. Im Alter von 6 Monaten war das Gewicht auf $145 \pm 2,59 \text{ kg}$ und mit 30 Monaten auf $455 \pm 8,15 \text{ kg}$ gestiegen. In der Zeit von der Geburt bis zum Alter von 30 Monaten nahm σ von $2,2 \pm 0,34 \text{ kg}$ auf $37,3 \pm 5,76 \text{ kg}$ zu, so dass auch in Kilagården die Zunahme bedeutend war. Der Variationskoeffizient war bei der Geburt $7,0 \pm 1,08$ und am Ende des ersten Halbjahrs $8,2 \pm 1,27$. Obgleich die Zunahme nicht genügend ist, um signifikativ zu sein, deuten die Resultate doch darauf hin, dass sich die Gewichtsvariation bei dieser Population ebenso verhielt wie bei der in Ultuna untersuchten. Nach dem Alter von 6 Monaten sank der Variationskoeffizient bis zum Alter von 18 Monaten, worauf er wieder stieg. In diesem Fall hat also die eintretende Trächtigkeit schon im Alter von 24 Monaten eine gesteigerte Variation des Lebendgewichts zur Folge gehabt.

Während der ganzen Wachstumszeit wies somit das Jungvieh in Ultuna ein höheres Lebendgewicht auf als in Kila-

gärden. In verschiedenem Alter hatte die Gewichts­differenz folgende Werte.

Alter	Gewichtsdifferenz der Populationen	
	$D \pm \varepsilon(D)$	$\bullet D : \varepsilon(D)$
0 Monate	$3,4 \pm 0,6$ kg	5,7
6 " 	$26 \pm 3,1$ "	8,4
12 " 	$39 \pm 4,3$ "	9,1
18 " 	$47 \pm 5,0$ "	9,4
24 " 	$48 \pm 6,7$ "	7,2
30 " 	$47 \pm 9,1$ "	5,2

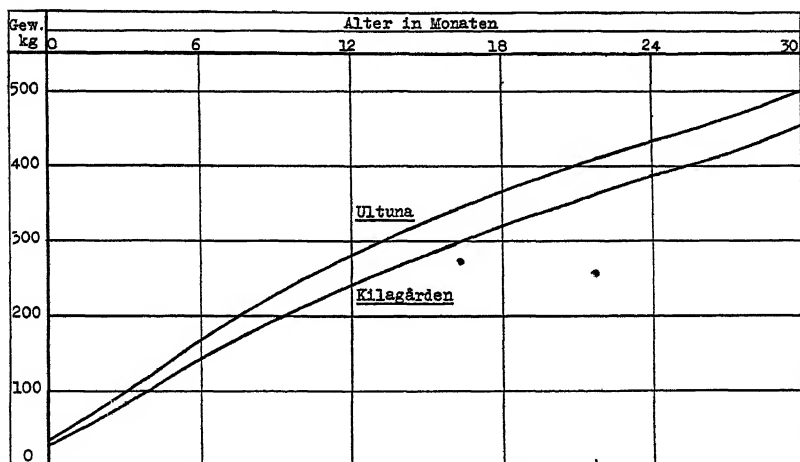


Fig. 2. Graphische Darstellung des Mittelgewichts während der Wachstumszeit für weibliche Tiere derselben Population.

Schon bei der Geburt bestand also ein signifikanter Unterschied im Durchschnittsgewicht, indem die Kälber in Ultuna $3,4 \pm 0,6$ kg mehr wogen als in Kilagården. Die Differenz wuchs dann immer mehr, bis sie im Alter von 24 Monaten $48 \pm 6,7$ kg betrug. Gegen Ende der Wachstumszeit zeigte der Unterschied eine abnehmende Tendenz, indem er mit 30 Monaten bloss $47 \pm 9,1$ kg betrug. Dieser Unterschied im Durchschnittsgewicht dürfte in erster Linie mit der konstatier-

ten Verschiedenheit der Fütterung beider Populationen zusammenhängen. Jedoch dürften auch genetische Verschiedenheiten bis zu gewissem Grade mitgewirkt haben.

Das Gewicht, welches die in Ultuna und Kilagården untersuchten Populationen in verschiedenem Alter aufwiesen, ergibt sich auch aus *Fig. 2*, wo es graphisch dargestellt ist.

3. Das Wachstum in verschiedenem Alter.

Das Wachstum wurde in dieser Untersuchung halbjahrsweise nach den bei der Ausgleichung erhaltenen Gewichten bestimmt. Die Verteilungen für die Tiere in Ultuna nach dem Wachstum während jedes Halbjahrs ergeben sich aus *Tab. 2*.

Tabelle 2.

Die Verteilungen für die weiblichen Tiere in Ultuna nach ihrem Wachstum während verschiedener Halbjahre.

Wachstum, kg	Anzahl Tiere während der verschiedenen Halbjahre				
	Erstes	Zweites	Drittes	Viertes	Fünftes
30—39					6
40—49			1	1	10
50—59			1	16	25
60—69			7	31	19
70—79			30	38	15
80—89	1	8	29	9	12
90—99	2	18	23	1	6
100—109	4	35	6		6
110—119	9	21	3		1
120—129	20	9	—		2
130—139	27	6	1		
140—149	21	4	—		
150—159	7	1	1		
160—169	8				
170—179	2				
180—189	—				
190—199	1				

Diese Verteilungen scheinen anzudeuten, dass der Unterschied im Wachstum zwischen den einzelnen Tieren in gewissen Halbjahren bedeutend grösser war als in anderen. Dies lässt sich jedoch sicherer nach dem Variationskoeffizienten beurteilen, weshalb dieser in der folgenden Zusammenstellung nebst den Charakteristika der Verteilungen angegeben ist.

Halbjahr	Die Wachstumsverteilungen in Ultuna		
	$M \pm \varepsilon(M)$	$\sigma \pm \varepsilon(\sigma)$	$V \pm \varepsilon(V)$
Erstes . . .	$135 \pm 1,8 \text{ kg}$	$18,0 \pm 1,26 \text{ kg}$	$13,3 \pm 0,98$
Zweites . .	$109 \pm 1,5$	$14,8 \pm 1,03$	$13,6 \pm 0,95$
Drittes . . .	$85 \pm 1,5$	$14,8 \pm 1,03$	$17,4 \pm 1,22$
Viertes . .	$70 \pm 1,0$	$10,6 \pm 0,74$	$15,1 \pm 1,06$
Fünftes . .	$68 \pm 2,0$	$20,0 \pm 1,40$	$29,4 \pm 2,06$

Hieraus geht hervor, dass das Wachstum während des ersten Halbjahrs nicht weniger als $135 \pm 1,8 \text{ kg}$ durchschnittlich je Tier betrug. Hierauf nahm es halbjahrsweise ab, so dass es während des fünften Halbjahrs nur durchschnittlich $68 \pm 2,0 \text{ kg}$ je Tier betrug, also ungefähr halb so viel wie während des ersten Halbjahrs.

Ausserdem zeigt die Zusammenstellung, dass der mittlere Fehler der Verteilungen vom ersten bis zum vierten Halbjahr von $18,0 \pm 1,26 \text{ kg}$ auf $10,6 \pm 0,74 \text{ kg}$ sank, während er später stieg, so dass während des fünften Halbjahrs ein mittlerer Fehler von $20,0 \pm 1,40 \text{ kg}$ erreicht wurde. Die relative Variation war dagegen, wie die Variationskoeffizienten angeben, während des ersten Halbjahrs am kleinsten und während des fünften am grössten. Die Erhöhung des Koeffizienten schritt jedoch nicht kontinuierlich fort, indem der Wert während des vierten Halbjahrs niedriger war als während des dritten. Die Unterschiede zwischen den Variationskoeffizienten der vier ersten Halbjahre sind jedoch zu klein, um völlig signifikativ zu sein, während der im fünften Halbjahr erhaltene Koeffizient in signifikativer Weise von allen übrigen abweicht. Dies dürfte

in erster Linie mit der bei gewissen Tieren in diesem Halbjahr eintretenden Trächtigkeit zusammenhängen.

Für die in Kilagården während der verschiedenen Halbjahre erhaltenen Wachstumsverteilungen waren die Charakteristika und die Variationskoeffizienten folgende.

Halbjahr	Die Wachstumsverteilungen in Kilagården		
	$M \pm \varepsilon (M)$	$\sigma \pm \varepsilon (\sigma)$	$V \pm \varepsilon (V)$
Erstes . . .	$113 \pm 2,3 \text{ kg}$	$10,4 \pm 1,61 \text{ kg}$	$9,2 \pm 1,42$
Zweites . . .	$96 \pm 2,4 \text{ "}$	$11,0 \pm 1,69 \text{ "}$	$11,5 \pm 1,77$
Drittes . . .	$76 \pm 2,1 \text{ "}$	$9,7 \pm 1,50 \text{ "}$	$12,8 \pm 1,98$
Viertes . . .	$70 \pm 2,0 \text{ "}$	$9,0 \pm 1,89 \text{ "}$	$12,9 \pm 1,99$
Fünftes . . .	$68 \pm 5,4 \text{ "}$	$24,6 \pm 3,80 \text{ "}$	$36,2 \pm 5,59$

Während des ersten Halbjahrs betrug also das Wachstum $113 \pm 2,3 \text{ kg}$. Dasselbe nahm dann allmählich ab, so dass es im fünften Halbjahr $68 \pm 5,4 \text{ kg}$ ausmachte. Es lag also in Kilagården ein ziemlich kleiner Unterschied im Wachstum zwischen dem ersten und fünften Halbjahr vor, da das Wachstum während des ersten Halbjahrs verhältnismässig gering war. Allem Anschein nach ist während dieses Halbjahrs die Wachstumsenergie der Tiere nicht völlig ausgenutzt worden.

Auch in Kilagården war der mittlere Fehler der Verteilung im vierten Halbjahr kleiner als vorher, indem der Wert nur $9,0 \pm 1,89 \text{ kg}$ betrug. Im fünften Halbjahr dagegen war der Wert bedeutend höher, was auf der in gewissen Fällen eintretenden Trächtigkeit beruht. Der Variationskoeffizient hatte jedoch seinen niedrigsten Wert, $9,2 \pm 1,42$, während des ersten Halbjahrs. Die danach eintretende Zunahme ging bis zum vierten Halbjahr weiter, in dem der Wert $12,9 \pm 1,99$ erreicht wurde. Nach dieser Zeit erfolgte eine so bedeutende Erhöhung, dass der Koeffizient während des fünften Halbjahrs einen Wert von $36,2 \pm 5,59$ erreichte. Die zu der genannten Zeit eintretende Trächtigkeit bewirkte also eine bedeutende Wachstumsverschiedenheit zwischen den Individuen.

Der Wachstumsunterschied während der verschiedenen Halbjahre zwischen den Populationen ergibt sich aus folgender Zusammenstellung.

Halbjahr	Wachstumsdifferenz der Populationen	
	$D \pm \varepsilon(D)$	$D : \varepsilon(D)$
Erstes	$22 \pm 2,9$ kg	7,9
Zweites	$13 \pm 2,8$ „	4,6
Drittes	$9 \pm 2,6$ „	3,5
Viertes	$0 \pm 2,2$ „	—
Fünftes	$0 \pm 5,8$ „	—

Diese Zusammenstellung zeigt, dass während des ersten Halbjahrs der Wachstumsunterschied je Tier $22 \pm 2,9$ kg betrug und also durchaus signifikativ war. Auch im zweiten und dritten Halbjahr war das Wachstum in Ultuna grösser als in Kilagården. Der Unterschied nahm jedoch immer mehr ab, so dass vom vierten Halbjahr einschliesslich an in beiden Fällen das Wachstum dasselbe war. Dies deutet darauf hin, dass der Wachstumsunterschied während des ersten Teiles des Lebens vor allem mit der verschiedenen Fütterung zusammenhing. Die schwächere Fütterung in Kilagården während des ersten Teiles des Lebens bedingte also ein geringeres Wachstum während dieser Zeit als in Ultuna. Nachdem während des zweiten Lebensjahres die Fütterung in Kilagården auf dieselbe Höhe gekommen war wie in Ultuna, trat deshalb kein Unterschied im Wachstum mehr hervor.

4. Der Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht und dem Gewicht in höherem Alter.

Der Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht in Ultuna und Kilagården und dem Gewicht in höherem Alter ergibt sich aus folgenden Korrelationskoeffizienten.

Geburtsgewicht korreliert mit		$r \pm e(r)$ in	
		Ultuna	Kilagården ²
dem Gewicht mit 6-Monaten		$+0,411 \pm 0,0823$	$+0,673 \pm 0,1188$
" 12		$+0,391 \pm 0,0839$	$+0,350 \pm 0,1906$
" 18		$+0,262 \pm 0,0922$	$+0,357 \pm 0,1895$
" 24 "		$+0,233 \pm 0,0936$	$+0,382 \pm 0,1855$
" 30 "		$+0,162 \pm 0,0964$	$+0,161 \pm 0,2116$

Hieraus ergibt sich, dass die Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht und dem Gewicht im Alter von 6 Monaten relativ stark war, indem r in Ultuna $+0,411 \pm 0,0823$ und in Kilagården $+0,673 \pm 0,1188$ betrug. Mit der fortschreitenden Entwicklung nahm in beiden Fällen die Korrelation ab, wie aus dem allmählich sinkenden r -Wert ersichtlich ist. Dieser betrug im Alter von 30 Monaten in Ultuna nur $+0,162 \pm 0,0964$ und in Kilagården $+0,161 \pm 0,2116$. Diese beiden Werte können nicht ohne weiteres als signifikativ betrachtet werden. Da sie sich in befriedigender Weise sowohl an die in niedrigerem Alter erhaltenen signifikativen Werte als auch an die in früher vorgenommenen Untersuchungen nachgewiesenen anschließen, dürfte man aber doch annehmen können, dass sie den wirklichen Sachverhalt zum Ausdruck bringen. Mit einem höheren Geburtsgewicht scheint also ein durchschnittlich höheres Gewicht während der ganzen Wachstumszeit einherzugehen.

Um den Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht und dem Gewicht in höherem Alter weiterhin zu beleuchten, wurde die in Ultuna behandelte Population in zwei Gruppen eingeteilt; in die eine wurden Tiere mit einem Geburtsgewicht von höchstens 35 kg aufgenommen, in die andere Tiere mit einem Geburtsgewicht von mindestens 36 kg. Für die erste Gruppe, die 53 Tiere umfasste, betrug das durchschnittliche Geburtsgewicht 32,3 kg, für die zweite, welche 49 Stück enthielt, 37,8 kg; der Unterschied im durchschnittlichen Geburtsgewicht zwischen den Gruppen war also 5,5 kg. Für die Tiere

Tabelle 3.

Die Verteilungen für die weiblichen Tiere in Ultuna mit niedrigem und hohem Geburtsgewicht nach ihrem Gewicht in höherem Alter.

6 Monate				12 Monate				18 Monate				24 Monate				30 Monate			
Gew. in kg	Anzahl mit			Gew. in kg	Anzahl mit			Gew. in kg	Anzahl mit			Gew. in kg	Anzahl mit			Gew. in kg	Anzahl mit		
	niedr.	hohem	Geb.-Gew.		niedr.	hohem	Geb.-Gew.		niedr.	hohem	Geb.-Gew.		niedr.	hohem	Geb.-Gew.		niedr.	hohem	Geb.-Gew.
118—130	2	1	211—225	1	1	290—306	1	1	343—361	1	1	400—420	2	1	400—420	2	1		
131—143	5	1	226—240	4	1	307—323	5	1	362—380	2	1	421—441	1	2	421—441	1	2		
144—156	7	3	241—255	9	2	324—340	7	5	381—399	5	3	442—462	10	3	442—462	10	3		
157—169	17	9	256—270	13	8	341—357	20	5	400—418	13	6	463—483	10	7	463—483	10	7		
170—182	14	18	271—285	11	9	358—374	7	14	419—437	16	13	484—504	10	6	484—504	10	6		
183—195	7	8	286—300	12	9	375—391	8	10	438—456	5	9	505—525	7	13	505—525	7	13		
196—208	1	7	301—315	2	14	392—408	5	10	457—475	10	10	526—546	7	8	526—546	7	8		
209—221	—	1	316—330	1	4	409—425	—	1	476—494	1	5	547—567	4	6	547—567	4	6		
222—234	—	1	331—345	—	1	426—442	—	2	495—513	—	2	568—588	2	3	568—588	2	3		

dieser beiden Gruppen wurden in höherem Alter die in *Tab. 3* angegebenen Gewichtsverteilungen erhalten.

Die Verteilungen zeigen, dass die Gruppe mit hohem Geburtsgewicht während der ganzen Wachstumszeit ein höheres Durchschnittsgewicht aufwies als die Gruppe mit niedrigem Geburtsgewicht. Dies ergibt sich des näheren aus den Mittelwerten der Gruppen, welche zusammen mit ihren Unterschieden in nachstehender Zusammenstellung aufgeführt sind.

Alter	$M \pm \varepsilon(M)$ für die Gruppe mit		Unterschied, D	$D : \varepsilon(D)$
	niedrigem Geb.-Gew.	hohem Geb.-Gew.		
6 Monate	$165 \pm 2,3$ kg	$178 \pm 2,7$ kg	$13 \pm 3,5$ kg	3,7
12 "	$270 \pm 3,0$ "	$288 \pm 3,5$ "	$18 \pm 4,6$ "	3,9
18 "	$355 \pm 3,4$ "	$373 \pm 3,9$ "	$18 \pm 5,8$ "	3,4
24 "	$426 \pm 3,9$ "	$442 \pm 4,4$ "	$16 \pm 5,9$ "	2,7
30 "	$494 \pm 5,5$ "	$509 \pm 5,6$ "	$15 \pm 7,8$ "	1,9

Diese Resultate zeigen, dass der Gewichtsunterschied zwischen den beiden Gruppen nicht, während der ganzen Wachstumszeit derselbe war. So wuchs die Differenz von 5,5 kg bei der Geburt auf 13 kg mit 6 Monaten sowie auf 18 kg mit 12 Monaten. Dieser Unterschied war unverändert vorhanden im Alter von 18 Monaten, verminderte sich aber dann auf 16 kg mit 24 Monaten und auf 15 kg mit 30 Monaten. Hinsichtlich des Wachstums verhielten sich also die beiden Gruppen etwas verschieden während der einzelnen Altersperioden, wie sich näher aus folgender Zusammenstellung ergibt (siehe nächste Seite).

Während des ersten Halbjahrs zeigte also die Gruppe mit hohem Geburtsgewicht ein bedeutend grösseres Wachstum als die andere. In beiden Fällen nahm das Wachstum während der weiteren Entwicklung immer mehr ab. Jedoch wiesen die beiden Gruppen in dieser Hinsicht einen wesentlichen Unterschied auf, indem der Rückgang in der Gruppe mit hohem Geburtsgewicht schneller stattfand. Schon während des dritten Halbjahrs war deshalb das Wachstum in beiden Gruppen

Halbjahr	Durchschnittswachstum in kg für die Gruppe mit		Unterschied zwischen den beiden Gruppen, kg
	niedrigem Geb.-Gew.	hohem Geb.-Gew.	
Erstes . . .	133	140	+7
Zweites . . .	105	110	+5
Drittes . . .	85	85	± 0
Viertes . . .	71	69	-2
Fünftes . . .	68	67	-1

dasselbe, und in späterem Alter zeigte die Gruppe mit dem niedrigeren Geburtsgewicht sogar ein etwas grösseres Wachstum als die andere.

Die Population in Kilagården wurde gleichfalls nach dem Geburtsgewicht in zwei Gruppen eingeteilt. Zu der Gruppe mit niedrigem Geburtsgewicht wurden Tiere mit einem Gewicht von höchstens 31 kg, zu der Gruppe mit hohem Geburtsgewicht solche mit einem Gewicht von mindestens 32 kg bei der Geburt gerechnet. Die erste Gruppe umfasste 12, die zweite 9 Tiere; das Durchschnittsgewicht betrug für die erste 29,8 kg, für die zweite 33,8 kg. Der Gewichtsunterschied betrug also 4,0 kg. Die späteren Mittelwerte der beiden Gruppen sowie die Unterschiede zwischen ihnen sind aus folgender Zusammenstellung ersichtlich.

Alter	$M \pm \varepsilon(M)$ für die Gruppe mit		Unterschied, D	$D : \varepsilon(D)$
	niedrigem Geb.-Gew.	hohem Geb.-Gew.		
6 Monate	$139 \pm 3,0$ kg	$152 \pm 3,1$ kg	$13 \pm 4,3$ kg	3,0
12 "	$236 \pm 3,9$ "	$246 \pm 6,1$ "	$10 \pm 7,2$ "	1,4
18 "	$311 \pm 5,1$ "	$322 \pm 7,5$ "	$11 \pm 9,1$ "	1,2
24 "	$379 \pm 7,3$ "	$394 \pm 10,1$ "	$15 \pm 12,5$ "	1,2
30 "	$450 \pm 9,3$ "	$462 \pm 15,1$ "	$12 \pm 17,7$ "	0,7

Auch in Kilagården hatte also die Gruppe mit niedrigem Geburtsgewicht ein geringeres Durchschnittsgewicht in jedem

folgenden Alter als die Gruppe mit hohem Geburtsgewicht. Der Unterschied zwischen den Durchschnittsgewichten der beiden Gruppen wuchs im ersten Halbjahr von 4,0 kg auf $13 \pm 4,3$ kg. Die folgende Entwicklung war etwas unregelmässig, indem der Unterschied im Alter von 24 Monaten $15 \pm 12,5$ kg und mit 30 Monaten $12 \pm 17,7$ kg betrug. Die bei dieser Untersuchung erhaltenen Resultate schliessen sich jedoch in befriedigender Weise an die entsprechenden Ergebnisse in Ultuna an.

Die Wachstumsresultate der beiden Gruppen und ihre Unterschiede in den einzelnen Halbjahren ergeben sich aus folgender Zusammenstellung.

Halbjahr	Durchschnittswachstum in kg für die Gruppe mit		Unterschied zwischen den beiden Gruppen, kg
	niedrigem Geb.-Gew.	hohem Geb.-Gew.	
Erstes . . .	109	118	+0
Zweites . .	97	94	-3
Drittes . . .	75	76	+1
Viertes . .	68	72	+4
Fünftes . .	71	68	-3

Dieses Resultat kommt dem in Ultuna erhaltenen sehr nahe. So war im ersten Halbjahr das Wachstum in der Gruppe mit hohem Geburtsgewicht grösser als in der andere. Während der weiteren Entwicklung bestand dagegen kein merklicher Wachstumsunterschied zwischen den beiden Gruppen; die Gruppe mit niedrigem Geburtsgewicht zeigte grösseres Wachstum in zweiten und fünften Halbjahr, während die Gruppe mit hohem Geburtsgewicht im dritten und vierten Halbjahr überlegen war. Der Zusammenhang des Geburtsgewichts mit dem fortgesetzten Wachstum erstreckte sich also in diesem Fall nur ungefähr über ein halbes Jahr. Jedoch wurde der in der Gruppe mit hohem Geburtsgewicht gewonnene Vor-

sprung zu einem wesentlichen Teil während der weiteren Entwicklung beibehalten, wie bereits oben angegeben wurde.

Die Untersuchung des Zusammenhanges zwischen dem Geburtsgewicht und dem Gewicht in höherem Alter hat also ergeben, dass dieser Zusammenhang während der ganzen Entwicklung positiv war, dass er aber allmählich immer mehr abnahm. Mit hohem Geburtsgewicht ging ein besonders starkes Wachstum im ersten Halbjahr einher, während in weiteren

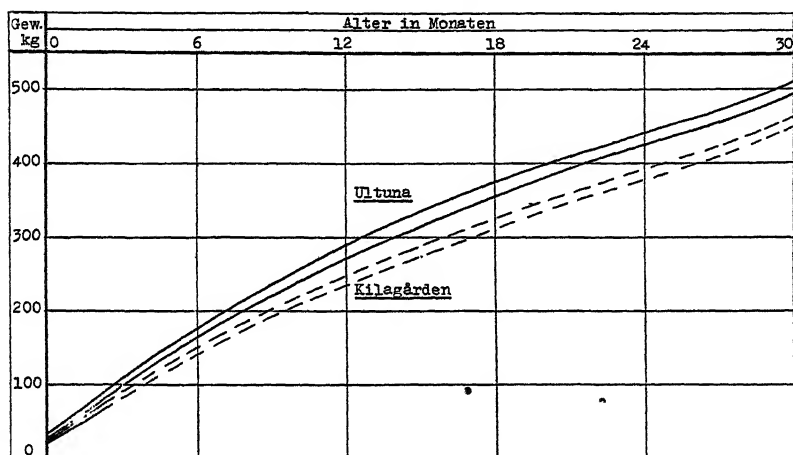


Fig. 3. Graphische Darstellung des Mittelgewichts während der Wachstumszeit für weibliche Tiere mit hohem und niedrigem Geburtsgewicht.

Verlauf der Entwicklung das Wachstum ziemlich unabhängig vom Geburtsgewicht war. Die Folge hiervon war, dass der bei der Geburt bestehende Gewichtsunterschied ziemlich stark während des ersten Halbjahrs zunahm. Während des folgenden Lebensjahres wurde im grossen und ganzen der mit 6 Monaten erreichte Gewichtsvorsprung der Tiere mit hohem Geburtsgewicht beibehalten, während nach dem Alter von 18 Monaten eine geringere Tendenz zu Verminderung der früheren Gewichts-differenz hervortrat. Mit 30 Monaten hatten jedoch die Tiere mit hohem Geburtsgewicht noch immer ein wesentlich höheres Gewicht als die Tiere mit niedrigem Geburtsgewicht.

Die in Ultuna und Kilagården für die Gruppen mit niedrigem und hohem Geburtsgewicht erhaltenen Durchschnittsgewichte in verschiedenem Alter sind in Fig. 3 graphisch wiedergegeben.

5. Der Zusammenhang zwischen dem Gewicht in einem bestimmten Alter und dem folgenden Wachstum.

Nach der vorhergehenden Untersuchung wies das Geburtsgewicht einen positiven Zusammenhang mit dem Gewicht in höherem Alter auf, und ausserdem war es von Bedeutung für das Wachstum während des ersten Teiles des Lebens. Um die Stärke des letzterwähnten Zusammenhanges genauer zu ermitteln, wurde die Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht und dem Wachstum während jedes folgenden Halbjahrs untersucht, wobei sich folgende Koeffizienten ergaben.

Geburtsgewicht korreliert mit dem	$r \pm \epsilon (r)$ in	
	Ultuna	Kilagården
Wachstum im 1. Halbjahr	$+0,252 \pm 0,0927$	$+0,558 \pm 0,1496$
„ „ 2. „	$+0,116 \pm 0,0977$	$-0,202 \pm 0,2083$
„ „ 3. „	$-0,200 \pm 0,0950$	$+0,259 \pm 0,2026$
„ „ 4. „	$+0,024 \pm 0,0990$	$+0,396 \pm 0,1831$
„ „ 5. „	$-0,084 \pm 0,0980$	$+0,393 \pm 0,1837$

Hieraus geht hervor, dass ein signifikanter Zusammenhang nur zwischen dem Geburtsgewicht und dem während des ersten Halbjahrs konstatierten Wachstum vorhanden war. Ein Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht und dem Wachstum während späterer Halbjahre war nicht zu konstatieren, da 5 positive und 3 negative Koeffizienten erhalten wurden, welche in keinem Falle signifikativ waren. Der Mittelwert für diese 8 Koeffizienten betrug nur $+0,094 \pm 0,0849$, so dass also der Einfluss des Geburtsgewichts auf das folgende Wachstum praktisch nach dem Ende des ersten Halbjahrs völlig aufgehört hat. Dieses Resultat stimmt in befriedigender Weise mit dem

überein, das bei Untersuchung des Wachstums in den Gruppen mit verschiedenem Geburtsgewicht erhalten wurde.

Im Anschluss hieran erhebt sich die Frage, ob während der weiteren Entwicklung das Gewicht zu einer anderen Zeit als bei der Geburt einen Zusammenhang mit dem Wachstum während des nächstfolgenden Halbjahrs aufweist. Um Klarheit hierüber zu gewinnen, wurde die fragliche Korrelation bei dem hier behandelten Material untersucht. Die erhaltenen Koeffizienten sind in der folgenden Zusammenstellung aufgeführt, in welche der Vollständigkeit halber auch der früher angegebene Koeffizient für den Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht und dem Wachstum während des ersten Halbjahrs aufgenommen ist.

Korrelierte Eigenschaften	$r \pm \varepsilon(r)$ in	
	Ultuna	Kilagården
Geb.-Gew. und Wachstum des 1. Halbjahrs	$+0,252 \pm 0,0027$	$+0,558 \pm 0,1496$
6-Mon. " " " 2. "	$+0,015 \pm 0,0990$	$+0,023 \pm 0,2171$
12- " " " " 3. "	$-0,117 \pm 0,0977$	$+0,223 \pm 0,2084$
18- " " " " 4. "	$+0,099 \pm 0,0980$	$+0,797 \pm 0,0796$
24- " " " " 5. "	$+0,169 \pm 0,0962$	$+0,727 \pm 0,1024$

Diese Koeffizienten wechseln zwischen $-0,117 \pm 0,0977$ und $+0,797 \pm 0,0796$, die Variation ist also bedeutend. Da der Mittelwert der Koeffizienten $+0,298 \pm 0,0915$ beträgt und da neun von ihnen positiv sind, darunter einige völlig signifikativ, während bloss einer negativ und nicht signifikativ ist, kann man sagen, dass eine gewisse positive Korrelation zwischen dem Gewicht in einem bestimmten Alter und dem Wachstum während des unmittelbar darauf folgenden Halbjahrs bestand. Ein höheres Gewicht in einem gewissen Zeitpunkt bot also eine etwas bessere Gewähr für das Wachstum während des kommenden Halbjahrs als ein niedrigeres Gewicht.

6. Der Zusammenhang zwischen dem Wachstum während eines bestimmten Halbjahrs und dem Gewicht in höherem Alter.

Um den hier behandelten Problemkomplex vollständiger zu beleuchten, wurde auch der Zusammenhang zwischen dem Wachstum während eines bestimmten Halbjahrs und dem Gewicht am Ende desselben Halbjahrs untersucht. Die dabei erhaltenen Korrelationskoeffizienten ergeben sich aus folgender Zusammenstellung.

Korrelierte Eigenschaften	$r \pm \varepsilon (r)$ in	
	Ultuna	Kilagården
Wachstum des 1. Halbjahrs und 6-Mon.-Gew.	$+0,957 \pm 0,0084$	$+0,941 \pm 0,0250$
» » 2. » » 12- » »	$+0,604 \pm 0,0680$	$+0,656 \pm 0,1248$
» » 3. » » 18- » »	$+0,397 \pm 0,0884$	$+0,628 \pm 0,1321$
» » 4. » » 24- » »	$+0,456 \pm 0,0784$	$+0,878 \pm 0,0500$
» » 5. » » 30- » »	$+0,614 \pm 0,0616$	$+0,682 \pm 0,1167$

Diese Koeffizienten sind bedeutend grösser als die, welche in den vorhergehenden Untersuchungen erhalten wurden. Insbesondere sind die Koeffizienten, die den Zusammenhang zwischen dem Wachstum des ersten Halbjahrs und dem Gewicht im Alter von 6 Monaten angeben, von ansehnlicher Grösse. Dass die in höherem Alter erhaltenen Koeffizienten etwas niedriger sind, dürfte damit zusammenhängen, dass das Wachstum allmählich immer mehr abnahm. Auch die letztgenannten Koeffizienten sind jedoch relativ hoch; es ist also klar, dass während jedes Halbjahrs das Wachstum in bedeutend höherem Grade ausschlaggebend für das am Ende desselben Halbjahrs vorhandene Gewicht war, als es das Gewicht zu Anfang desselben Halbjahrs für das genannte Wachstum war. Das Wachstum ist deshalb als das primäre, das Gewicht als das sekundäre Moment des hier behandelten Kausalzusammenhangs zu betrachten.

Im Anschluss hieran wurde auch der Zusammenhang zwischen dem Wachstum während des ersten Halbjahrs und dem Gewicht am Ende jedes folgenden Halbjahrs untersucht. Die dabei erhaltenen Koeffizienten sind aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich, in die der Vollständigkeit halber auch der oben angegebene Koeffizient für den Zusammenhang zwischen dem Wachstum während des ersten Halbjahrs und dem Gewicht am Ende desselben aufgenommen ist.

Wachstum im 1. Halbjahr korreliert mit dem	$r \pm \varepsilon(r)$ in	
	Ultuna	Kilagården
Gewicht mit 6 Monaten	$+0,959 \pm 0,0084$	$+0,941 \pm 0,0250$
„ „ 12	$+0,823 \pm 0,0320$	$+0,780 \pm 0,1019$
„ „ 18	$+0,559 \pm 0,0681$	$+0,685 \pm 0,1302$
„ „ 24	$+0,469 \pm 0,0772$	$+0,627 \pm 0,1324$
„ „ 30	$+0,424 \pm 0,0812$	$+0,425 \pm 0,2006$

Hieraus geht hervor, dass das Wachstum in erstem Halbjahr positive Korrelation mit dem Gewicht während der ganzen folgenden Entwicklung aufwies, da sämtliche Koeffizienten als signifikativ betrachtet werden können. Der allmählich immer mehr abnehmende Wert der Koeffizienten zeigt indes, dass die Korrelation im Lauf der Entwicklung schwächer wurde. Die für das Wachstum während des ersten Halbjahrs und das Gewicht im Alter von 30 Monaten erhaltenen Koeffizienten waren jedoch noch immer verhältnismässig hoch. Hieraus kann man den wichtigen Schluss ziehen, dass das Wachstum im ersten Halbjahr von wesentlich grösserer Bedeutung für das Gewicht in höherem Alter war als das Geburtsgewicht.

Um den Zusammenhang zwischen dem Wachstum des ersten Halbjahrs und dem Gewicht in höherem Alter näher zu untersuchen, wurden die beiden hier behandelten Populationen nach dem Wachstum des ersten Halbjahrs in zwei Gruppen eingeteilt, eine mit geringem und eine mit starkem Wachstum. In Ultuna wurden zu der erstgenannten Gruppe Tiere mit

höchstens 135 kg Zuwachs, zu der letztgenannten Tiere mit mindestens 136 kg Zuwachs während des ersten Halbjahrs gerechnet. Die Anzahl der Tiere der ersten Gruppe betrug 56, die der zweiten 46. Das Durchschnittswachstum betrug in der Gruppe mit geringem Wachstum 123 kg, in der mit starkem Wachstum 150 kg. Die dabei erhaltenen Verteilungen finden sich in Tab. 4.

Hieraus geht hervor, dass sich mit stärkerem Wachstum während des ersten Halbjahrs die Gewichtsverteilungen in höherem Alter stark verschoben. Dies ergibt sich jedoch deutlicher aus folgenden Durchschnittsgewichten für die beiden Gruppen sowie aus den gleichzeitig angegebenen Unterschieden zwischen denselben.

Alter	$M \pm \epsilon(M)$ für die Gruppe mit		Unterschied, D	$D : \epsilon(D)$
	geringem Wachstum	starkem Wachstum		
6 Monate	$158 \pm 1,8$ kg	$187 \pm 1,7$ kg	$29 \pm 2,5$ kg	11,6
12 "	$265 \pm 2,8$ "	$296 \pm 2,6$ "	$31 \pm 3,8$ "	8,2
18 "	$352 \pm 3,8$ "	$378 \pm 3,6$ "	$26 \pm 4,9$ "	5,3
24 "	$423 \pm 3,9$ "	$447 \pm 4,0$ "	$24 \pm 5,6$ "	4,3
30 "	$490 \pm 5,8$ "	$515 \pm 5,8$ "	$25 \pm 7,5$ "	3,3

In der Gruppe mit geringem Wachstum während des ersten Halbjahrs betrug das Durchschnittsgewicht bei der Geburt 34,1 kg und in der Gruppe mit starkem Wachstum 35,9 kg, so dass also die Verschiedenheit des Geburtsgewichts relativ gering war. Infolge des erheblichen Unterschiedes im Wachstum während des ersten Halbjahrs, welcher durchschnittlich 27 kg je Tier betrug, bestand im Alter von 6 Monaten eine Gewichts-differenz von nicht weniger als $29 \pm 2,5$ kg. Auch in späterem Alter war das Gewicht in der Gruppe mit starkem Wachstum während des ersten Halbjahrs beträchtlich höher als in der anderen. Der grösste Unterschied zwischen den Mittelgewichten der beiden Gruppen lag im Alter von 12 Monaten vor, wo er $31 \pm 3,8$ kg betrug. Nach diesem Alter nahm der Unter-

Tabelle 4.

Die Verteilungen für die weiblichen Tiere in Ulluna mit geringem und starkem Wachstum während des ersten Halbjahrs nach dem Gewicht in höherem Alter.

6 Monate			12 Monate			18 Monate			24 Monate			30 Monate		
Gew. in kg	Anzahl mit		Gew. in kg	Anzahl mit		Gew. in kg	Anzahl mit		Gew. in kg	Anzahl mit		Gew. in kg	Anzahl mit	
	ge- ringem	starkem		ge- ringem	starkem		ge- ringem	starkem		ge- ringem	starkem		ge- ringem	starkem
	Wachstum			Wachstum			Wachstum			Wachstum			Wachstum	
118—130	3	—	211—225	2	—	290—306	2	—	343—351	2	—	400—420	2	1
131—143	6	—	226—240	5	—	307—323	6	—	362—380	2	—	421—441	3	—
144—156	10	—	241—255	11	—	324—340	8	4	381—399	6	2	442—462	10	3
157—169	26	—	256—270	17	4	341—357	19	6	400—418	15	4	463—483	13	4
170—182	11	21	271—285	11	9	358—374	11	10	419—437	15	14	484—504	8	8
183—195	—	15	286—300	7	14	375—391	6	12	438—456	8	6	505—525	7	13
196—208	—	8	301—315	3	13	392—408	4	11	457—475	6	14	526—546	7	8
209—221	—	1	316—330	—	5	409—425	—	1	476—494	2	4	547—567	5	5
222—234	—	1	331—345	—	1	426—442	—	2	495—513	—	2	568—588	1	4

schied etwas ab, so dass er mit 30 Monaten $25 \pm 7,5$ kg ausmachte.

Das Durchschnittswachstum je Tier, welches die beiden Gruppen während der verschiedenen Halbjahre aufwiesen, ergibt sich aus folgender Zusammenstellung:

Halbjahr	Durchschnittsgewicht in kg für die Gruppe mit		Unterschied zwischen den beiden Gruppen, kg
	geringem Wachstum	starkem Wachstum	
Erstes . . .	124	151	+ 27
Zweites . . .	107	109	+ 2
Drittes . . .	87	82	- 5
Viertes . . .	71	69	- 2
Fünftes . . .	67	68	+ 1

Hieraus ist ersichtlich, dass der während des ersten Halbjahrs vorhandene Wachstumsunterschied von 27 kg schon während des nächstfolgenden Halbjahrs auf 2 kg herabgegangen ist, so dass die Verschiedenheit im Wachstum also von ziemlich zufälliger Natur zu sein scheint. Dies ergibt sich auch aus den während der folgenden Halbjahre konstatierten Wachstumsunterschiede, da dieselben während des 3. und 4. Halbjahrs negativ waren, was zeigt, dass die Gruppe, die im ersten Halbjahr starkes Wachstum aufwies, in späterem Alter der andern durchaus nicht im Wachstum überlegen war.

In Kilagården wurden zu der Gruppe mit geringem Wachstum Tiere mit höchstens 113 kg Zuwachs und zu der Gruppe mit starkem Wachstum Tiere mit mindestens 114 kg Zuwachs während des ersten Halbjahrs gerechnet. Das Durchschnittswachstum der ersten Gruppe betrug 106 kg, das der zweiten 122 kg. Die erhaltenen Mittelwerte für die beiden Gruppen in höherem Alter sowie die Unterschiede zwischen denselben ergeben sich aus folgender Zusammenstellung (siehe nächste Seite).

In der Gruppe mit geringem Wachstum während des ersten Halbjahrs betrug das Durchschnittsgewicht bei der Geburt

Alter	$M \pm \varepsilon(M)$ für die Gruppe mit		Unterschied, D	$D : \varepsilon(D)$
	geringem Wachstum	starkem Wachstum		
6 Monate	$137 \pm 2,9$ kg	$154 \pm 2,1$ kg	$17 \pm 3,6$ kg	4,7
12 "	$231 \pm 3,6$ "	$251 \pm 4,2$ "	$20 \pm 5,5$ "	3,6
18 "	$305 \pm 4,9$ "	$328 \pm 5,3$ "	$23 \pm 7,2$ "	3,2
24 "	$371 \pm 6,9$ "	$402 \pm 7,5$ "	$31 \pm 10,2$ "	3,0
30 "	$444 \pm 9,6$ "	$467 \pm 12,8$ "	$23 \pm 16,0$ "	1,4

30,7 kg und in der Gruppe mit starkem Wachstum 32,3 kg. Auch in Kilagården war also der Unterschied im Geburtsgewicht zwischen den beiden Gruppen nicht besonders bedeutend. Die Verschiedenheit in Wachstum während des ersten Halbjahrs, welche 16 kg betrug, erhöhte die Gewichts Differenz im Alter von 6 Monaten auf $17 \pm 3,6$ kg. Die Differenzierung nahm während der nächstfolgenden Halbjahre zu, so dass mit 24 Monaten ein Unterschied von $31 \pm 10,2$ kg bestand. Während des letzten Halbjahrs erfolgte ein gewisser Ausgleich, indem der Unterschied der Gruppen im Alter von 30 Monaten auf $23 \pm 16,0$ kg herabgegangen war.

Das Durchschnittswachstum der beiden Gruppen sowie den Unterschied im Wachstum zwischen ihnen zeigt folgende Zusammenstellung.

Halbjahr	Durchschnittswachstum in kg für die Gruppe mit		Unterschied zwischen den beiden Gruppen, kg
	geringem Wachstum	starkem Wachstum	
Erstes . . .	106	122	+16
Zweites . .	94	97	+ 3
Drittes . .	74	77	+ 3
Viertes . .	66	74	+ 8
Fünftes . .	73	65	- 8

Diese Ziffern geben an, dass auch in Kilagården der Unterschied in Wachstum der Gruppen während der weiteren Ent-

wicklung stark abnahm. ^f Dass während einiger der folgenden Halbjahre doch recht bedeutende Differenzen vorkommen konnten, scheint wesentlich auf rein zufälligen Ursachen beruht zu haben, was u. a. daraus hervorgeht, dass die Differenz vom vierten zum fünften Halbjahr, während welcher sie am grössten war, vom Positiven ins Negative umschlug.

Die in Ultuna und Kilagården für die beiden verglichenen

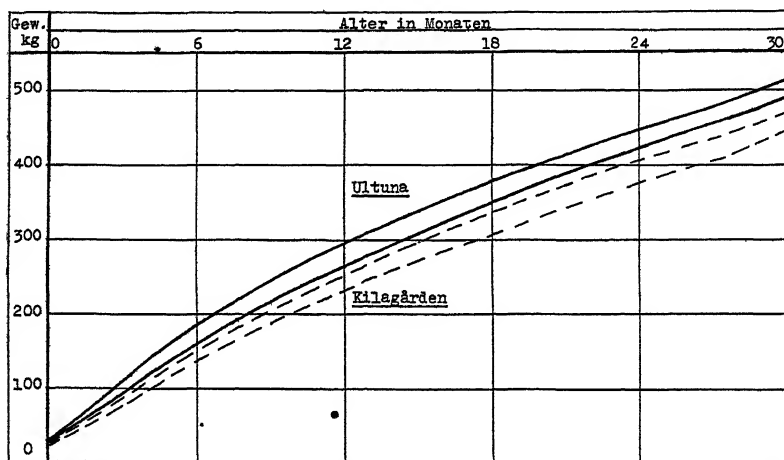


Fig. 4. Graphische Darstellung des Mittelgewichts während der Wachstumszeit für weibliche Tiere mit starkem und geringem Wachstum im ersten Halbjahr.

Gruppen erhaltenen Durchschnittsgewichte sind graphisch in Fig. 4 dargestellt.

Die Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen dem Wachstum während des ersten Halbjahrs und dem Gewicht in höherem Alter hat also ergeben, dass dieser Zusammenhang positiv und von bedeutender Grösse war. Er nahm im Verlauf der Entwicklung immer mehr ab, trat aber im Alter von 30 Monaten noch stark hervor. Der Wachstumsunterschied im ersten Halbjahr scheint in gewissem Grade mit der Verschiedenheit des Geburtsgewichts zusammenzuhängen. Ausserdem geht aus der Untersuchung hervor, dass das Wachstum des ersten

Halbjahrs keinen merklichen Zusammenhang mit dem während der folgenden Halbjahre aufwies. Während des letzten Teils der Wachstumszeit glichen sich deshalb die früheren Gewichtsunterschiede etwas aus, wenn sie auch mit 30 Monaten noch immer relativ gross waren.

7. Der Zusammenhang zwischen dem Wachstum während verschiedener Halbjahre.

Um völlige Klarheit hierüber zu gewinnen, wurde der Zusammenhang zwischen dem Wachstum während jedes einzelnen Halbjahrs und dem während eines jeden der übrigen Halbjahre untersucht. Die Resultate ergeben sich aus folgenden Korrelationskoeffizienten.

Das Wachstum korreliert während des	$r \pm \varepsilon(r)$ in	
	Ultuna	Kilagården
1. und 2. Halbjahrs	$-0,009 \pm 0,0990$	$+0,070 \pm 0,2171$
„ „ 3. „	$-0,890 \pm 0,0896$	$+0,188 \pm 0,2141$
„ „ 4. „	$-0,027 \pm 0,0989$	$+0,540 \pm 0,1546$
„ „ 5. „	$-0,015 \pm 0,0990$	$-0,112 \pm 0,2155$
2. „ 3. „	$+0,238 \pm 0,0934$	$+0,148 \pm 0,2134$
„ „ 4. „	$-0,072 \pm 0,0985$	$+0,845 \pm 0,1022$
„ „ 5. „	$-0,136 \pm 0,0972$	$+0,330 \pm 0,1944$
3. „ 4. „	$+0,251 \pm 0,0928$	$+0,598 \pm 0,1402$
„ „ 5. „	$+0,127 \pm 0,0974$	$-0,074 \pm 0,2170$
4. „ 5. „	$+0,364 \pm 0,0859$	$+0,368 \pm 0,1887$

Als Ausdruck für den Zusammenhang zwischen den Wachstum während unmittelbar aufeinander folgender Halbjahre ergab sich im Durchschnitt für Ultuna $r = +0,211 \pm 0,0754$ und in Kilagården $r = +0,296 \pm 0,1158$. Diese Koeffizienten sind also beide positiv, aber die Werte sind so niedrig, dass sie je für sich nicht als signifikativ betrachtet werden können. Zusammen geben sie einen Mittelwert von $r = +0,254 \pm 0,0646$,

und da dieser 3,9 mal grösser ist als sein mittlerer Fehler, dürfte er als statistisch sichergestellt gelten können. Er gibt also an, dass ein positiver Zusammenhang zwischen dem Wachstum während unmittelbar aufeinanderfolgender Halbjahre bestand. Dieser Zusammenhang war jedoch so schwach, dass er nur relativ geringe praktische Bedeutung besass.

Als Ausdruck für den Zusammenhang zwischen dem Wachstum während eines bestimmten Halbjahrs und dem während eines anderen nicht unmittelbar darauf folgenden Halbjahrs ergab sich durchschnittlich in Ultuna $r = -0,072 \pm 0,0592$ und in Kilagården $r = +0,195 \pm 0,1046$. Da der erste Wert negativ und der zweite positiv ist und da keiner von beiden signifikative Grösse hat, konnte weder in Ultuna noch in Kilagården eine solche Korrelation nachgewiesen werden. Dies geht auch daraus hervor, dass der Mittelwert sämtlicher 12 Koeffizienten bloss $r = +0,061 \pm 0,071$ betrug.

Das Wachstum während eines gewissen Halbjahrs war also bei diesen Beständen in hohem Grade unabhängig von dem während eines anderen Halbjahrs. Nur wenn die beiden Halbjahre unmittelbar aufeinander folgten, war ein geringer positiver Zusammenhang bemerkbar, während in den übrigen Fällen kein solcher nachweisbar war. Die genetischen Faktoren, welche zweifellos das Wachstum regulieren, machten sich also nur in geringem Grade geltend. Dies dürfte im allgemeinen erst der Fall sein, wenn die Wachstumsenergie in besonders hohem Grade ausgenutzt wird.

8. Diskussion und Zusammenfassung.

Die in Ultuna für die Gewichts- und Wachstumsstudien ausgewählte Population, die aus 102 Tieren bestand, zeigte schon bei der Geburt ein etwas höheres Durchschnittsgewicht als die entsprechende Population in Kilagården, welche 21 Tiere umfasste. Die Gewichts Differenz nahm während des ersten Halbjahrs sehr rasch zu, so dass sie schon am Ende desselben $26 \pm 3,1$ kg betrug. Diese Zunahme ging dann weiter, wenn

auch in immer geringerem Grade, bis am Ende des vierten Halbjahrs ein Gewichtsunterschied von $48 \pm 6,7$ kg bestand. Im letzten Halbjahr zeigte die Differenz eine geringe Tendenz zu Abnahme, die jedoch zu unbedeutend war, um signifikativ zu sein. Die Population in Ultuna hatte also während der gesamten Wachstumszeit ein bedeutend höheres Gewicht als die in Kilagården.

Da der Unterschied im Geburtsgewicht zwischen den beiden Populationen nur $3,4 \pm 0,6$ kg betrug, der Unterschied im Endgewicht dagegen nicht weniger als $47 \pm 9,1$ kg, war ihr Wachstum wesentlich verschieden. Der in Ultuna bis zum Alter von 30 Monaten erhaltene Gewichtszunahme betrug nämlich 467 kg, während der entsprechende Zuwachs in Kilagården nur 423 kg ausmachte. Zu einem gewissen Teil kann der Wachstumsunterschied mit dem Unterschied im Geburtsgewicht in Zusammenhang gebracht werden, indem auch innerhalb desselben Bestandes eine Verschiedenheit im Geburtsgewicht mit einer Verschiedenheit des Wachstums während der folgenden Entwicklung einhergeht. Diese ganze Wachstumsdifferenz lässt sich jedoch nicht lediglich aus der Verschiedenheit des Geburtsgewichts erklären, sondern muss teilweise mit der verschiedenen Fütterung in Verbindung gebracht werden. Dass dieser Umstand stark mitgewirkt hat, ergibt sich daraus, dass das prozentuale Wachstum während verschiedener Halbjahre sonst nicht so bedeutende Differenzen aufgewiesen hätte, wie es tatsächlich der Fall war. Dies ist deutlich aus folgender Zusammenstellung ersichtlich.

	Prozentuales Wachstum während verschiedener Halbjahre				
	Erstes	Zweites	Drittes	Viertes	Fünftes
Ultuna . .	28,9	23,3	18,2	15,0	14,6
Kilagården .	26,7	22,7	18,0	16,5	16,1

In Ultuna betrug also das Wachstum während des ersten Halbjahrs 28,9 % und während des zweiten 23,3 % des gesamten Wachstums, so dass nicht weniger als 52,2 % desselben auf das

erste Lebensjahr entfielen. In Kilagården betrug dagegen das Wachstum des ersten Halbjahrs 26,7 % und das des zweiten 22,7 %, so dass nur 49,4 % des gesamten Wachstums auf das erste Lebensjahr kamen. Während des letzten Jahres des hier untersuchten Teils der Wachstumszeit, nämlich vom 18. bis zum 30. Monat, betrug das Wachstum in Ultuna bloss 29,6 % des gesamten Wachstums, in Kilagården dagegen 32,6 %.

Diese Verschiedenheit im prozentualen Wachstum während verschiedener Lebensabschnitte beruhte nach dem soeben Angeführten teilweise auf dem Unterschied der Fütterung. In Ultuna war die Fütterung im ersten Lebensjahr, besonders während seines ersten Teiles, kräftiger als in Kilagården, während es sich im letzten Jahre der Aufzucht umgekehrt verhielt. Das grössere Wachstum in Ultuna während des ersten Lebensjahres konnte jedoch in Kilagården während des letzten Jahres nicht eingeholt werden, weshalb das totale Wachstum ebenso wie das Lebendgewicht am Ende der Aufzucht niedriger war als in Ultuna.

Diese Verhältnisse scheinen sehr stark auf das Resultat der Jungviehaufzucht einzuwirken. Wenn dieses so günstig wie möglich sein soll, muss nämlich das konstitutionell bedingte Wachstumsvermögen relativ vollständig ausgenutzt werden. Da dieses Vermögen des Jungviehs offenbar während des ersten Teiles des Lebens bedeutend grösser ist als später, ist es vor allem von Wichtigkeit, dass es dann so gut wie möglich ausgenutzt wird. Geschieht dies nicht, so bleibt das Tier natürlich in der Entwicklung zurück. Was dabei verloren geht, scheint später nur unvollständig wieder eingebracht werden zu können, da *das Wachstumsvermögen stark an die Zeit gebunden ist und daher nur in geringem Grade zwecks Ausnutzung während eines späteren Teiles der Wachstumszeit aufgespeichert werden kann.*

Aus der Untersuchung ergibt sich ferner, dass das Geburtsgewicht in positiver Korrelation zu dem Gewicht in späterem Alter stand. Die Stärke der Korrelation nahm mit steigendem Alter ab, so dass sie mit 30 Monaten relativ schwach hervor-

trat. Die Korrelation beruhte vor allem darauf, dass Tiere mit hohem Geburtsgewicht während des ersten Teils des Lebens ein stärkeres Wachstum zeigten als die übrigen, weshalb der Gewichtsunterschied zwischen Tieren mit hohem und niedrigem Geburtsgewicht während dieser Zeit bedeutend zunahm. Im späteren Teil der Wachstumszeit scheint dagegen kein nachweisbarer Unterschied im Wachstum zwischen Tieren mit verschiedenem Geburtsgewicht zu bestehen. Eine geringe Tendenz zu Ausgleichung des früheren Gewichtsunterschiedes konnte statt dessen gegen Ende der Wachstumszeit konstatiert werden, wenngleich noch im Alter von 30 Monaten Tiere mit hohem Geburtsgewicht durchschnittlich wesentlich höhere Gewichte hatten als solche mit niedrigem.

Diese Verhältnisse hatten zur Folge, dass Tiere mit hohem Geburtsgewicht ein grösseres prozentuales Wachstum im ersten Teil des Lebens aufwiesen als Tiere mit niedrigem Geburtsgewicht, während es sich im letzten Abschnitt der Wachstumszeit umgekehrt verhielt. Dies ergibt sich des näheren aus folgender Zusammenstellung.

	Totale Ge- wichtszu- nahme, kg	Prozentuale Gewichtszunahme in den verschiedenen Halbjahren				
		Erstes	Zweites	Drittes	Viertes	Fünftes
Ultuna:						
hohes Geburtsgewicht:	471	29,7	23,4	18,1	14,6	14,2
niedriges "	462	28,8	22,7	18,4	15,4	14,7
Kilagården:						
hohes Geburtsgewicht	428	27,6	22,0	17,7	16,8	15,9
niedriges "	420	25,9	23,1	17,9	16,2	16,9

In Ultuna betrug also bei der Gruppe mit hohem Geburtsgewicht das Wachstum des ersten Halbjahrs 29,7 %, bei der Gruppe mit niedrigem Geburtsgewicht dagegen nur 28,8 %. In Kilagården waren die entsprechenden Prozentzahlen 27,6 und 25,9. Im letzten Halbjahr war das Verhältnis das umgekehrte, indem in Ultuna das Wachstum bei der Gruppe mit hohem

Geburtsgewicht nur 14,2% ausmachte, bei der Gruppe mit niedrigem Geburtsgewicht aber 14,7%. In Kilagården betrug in den beiden Fällen das Wachstum während desselben Halbjahrs 15,9 bzw. 16,9%.

Mit höherem Geburtsgewicht war also nicht bloss ein grösseres absolutes, sondern auch ein grösseres relatives Wachstum im ersten Teil der Wachstumszeit verbunden. Während des späteren Teiles derselben war dagegen das absolute Wachstum ziemlich unabhängig von dem Geburtsgewicht, während das relative Wachstum mit steigendem Geburtsgewicht abnahm. Offenbar ermöglichte ein höheres Geburtsgewicht eine nicht bloss absolut, sondern auch relativ stärkere Futteraufnahme während des ersten Halbjahrs. Die Folge hiervon war eine entsprechende Steigerung sowohl der totalen Gewichtszunahme als des Gewichtes in ausgewachsenem Stadium. Diese Resultate zeigen also, dass es von Wichtigkeit ist, für die Aufzucht Kälber mit hohem Geburtsgewicht auszuwählen. Ebenso dürfte sich ergeben, dass die trächtigen Kühe so gepflegt und gefüttert werden müssen, dass die Kälber bei der Geburt gut entwickelt sind, weil sie hierdurch die beste Startmöglichkeit erhalten.

Während der ganzen Wachstumszeit scheint eine geringe positive Korrelation ($r = + 0,298 \pm 0,0915$) zwischen dem Gewicht in einem bestimmten Alter und dem Wachstum während des nächstfolgenden Halbjahrs zu bestehen. Dieser Korrelation lag offenbar derselbe Umstand zugrunde, der soeben für das Geburtsgewicht angeführt wurde, indem ein höheres Gewicht eine Voraussetzung für grössere Futteraufnahme und dadurch bedingtes stärkeres Wachstum während des folgenden Halbjahrs bildete. Die verhältnismässig geringe Stärke der Korrelation weist darauf hin, dass in dieser Beziehung starke Störungen auftraten. Infolgedessen konnte sich der Zusammenhang nur während relativ kurzer Zeit geltend machen. Hierzu dürfte auch beigetragen haben, dass die Fütterungsnorm etwas erhöht wurde für Tiere, die augenfälliger in der Entwicklung zurückgeblieben waren.

Was das Wachstum während jedes² einzelnen Halbjahrs und das Gewicht am Ende desselben Halbjahrs betrifft, so zeigte die Untersuchung, dass dieser Zusammenhang positiv und während der ganzen Wachstumszeit von bedeutender Stärke war. Besonders stark war er zwischen dem Wachstum des ersten Halbjahrs und dem Gewicht am Ende desselben. Auch der in späterem Alter bestehende Zusammenhang zwischen diesen Momenten war jedoch bedeutend, weshalb das Wachstum jedes Halbjahrs in wesentlich höherem Grade ausschlaggebend für das Gewicht am Ende desselben Halbjahrs war als das Gewicht zu Beginn des Halbjahrs für das Wachstum während desselben.

Die Untersuchung hat ferner ergeben, dass das Wachstum des ersten Halbjahrs stark auf das Gewicht während des gesamten übrigen Teiles der Wachstumszeit einwirkte. Der Zusammenhang nahm im weiteren Verlauf der Entwicklung an Stärke ab, machte sich aber noch im Alter von 30 Monaten hochgradig geltend. Die Verschiedenheit im Wachstum während des ersten Halbjahrs scheint jedoch nicht in nachweisbarem Grade mit einer entsprechenden Verschiedenheit während späterer Halbjahre einherzugehen. Infolgedessen zeigte das prozentuale Wachstum während der einzelnen Halbjahre einen engen Zusammenhang mit der absoluten Grösse des Wachstums im ersten Halbjahr, wie sich deutlich aus folgender Zusammenstellung ergibt.

	Totale Ge- wichtszu- nahme, kg	Prozentuale Gewichtszunahme in den verschiedenen Halbjahren				
		Erstes	Zweites	Drittes	Viertes	Fünftes
Ultuna:						
starkes Wachstum . .	479	31,5	22,8	17,1	14,4	14,2
geringes " . .	456	27,2	23,5	19,1	15,5	14,7
Kilagården:						
starkes Wachstum . .	435	28,1	22,8	17,7	17,0	14,9
geringes " . .	413	25,7	22,7	17,9	16,0	17,7

Hieraus ergibt sich, dass in Ultuna bei der Gruppe mit starkem Wachstum während des ersten Halbjahrs nicht weniger als 31,5 % des gesamten Wachstums auf dieses Halbjahr entfielen und nur 14,2 % auf das letzte Halbjahr. In der Gruppe mit geringem Wachstum während des ersten Halbjahrs betrug dagegen das Wachstum während desselben nur 27,2 % des gesamten Wachstums, während 14,7 % auf das letzte Halbjahr entfielen. In Kilagården betrug das Wachstum in der Gruppe, wo es gross war, im ersten Halbjahr 28,1 % und im letzten Halbjahr 14,9 % des gesamten Wachstums, während es in der Gruppe mit geringem Wachstum im ersten Halbjahr bloss 25,7 %, im letzten aber 17,7 % ausmachte.

Mit starkem absolutem Wachstum während des ersten Halbjahrs war also nicht bloss starkes totales Wachstum und hohes Gewicht am Ende der Wachstumszeit verbunden, sondern auch starkes prozentuales Wachstum während des ersten Halbjahrs. Dieses Resultat stimmt völlig mit dem bei Behandlung des Geburtsgewichts angeführten überein. Es kann deshalb als sicher nachgewiesen gelten, dass, wenn grösstmögliches totales Wachstum und Endgewicht der Tiere erreicht werden soll, die zutreffenden Massnahmen sich vor allem auf das erste Halbjahr richten müssen, so dass die Wachstumsenergie des Tieres während desselben so vollständig wie möglich ausgenutzt wird. *Je grösser der prozentuale Teil des gesamten Wachstums ist, der auf dieses Halbjahr entfällt, um so besser ist also das Endergebnis bei Aufzucht des Jungviehs.*

Im letzten Teil der Untersuchung wird der Zusammenhang zwischen dem Wachstum während verschiedener Halbjahre behandelt. Da dieser Zusammenhang nur in geringem Grade während unmittelbar aufeinanderfolgender Halbjahre hervortrat und sich in den übrigen Fällen nicht in nachweisbarem Grade geltend machte, dürften die wachstumsregelnden, konstitutionell begründeten Faktoren ihre Wirkung hauptsächlich entfalten, wenn die Verhältnisse in bezug auf Fütterung und Pflege so günstig sind, dass die Entwicklung stark forciert wird. Da dies nur während relativ beschränkter Perioden der

Fall gewesen zu sein scheint, ist der Zusammenhang zwischen dem Wachstum während verschiedener Halbjahre nur schwach hervorgetreten.

9. Sammanfattning.

Föreliggande undersökning rör *tillväxtförhållanden hos ungdjuren i tvenne besättningar, Ultuna och Kilagården, av svensk röd och rit boskap*. Det använda primärmaterialet har erhållits från en av professor L. NANNESON under åren 1927—32 vid dessa gårdar utförd kontroll av ungdjurens tillväxt- och foderförbrukning. Ur detta material hava de djur uttagits, för vilka kontrollen genomförts från födelsen till 30 månaders ålder. Som antalet handjur var alltför ringa för undersökningen, har denna måst begränsas till hondjuren.

Den vid Ultuna för de utförda vikt- och tillväxtstudierna uttagna populationen, som utgjordes av 102 djur, visade redan vid födelsen något högre medelvikt än motsvarande population vid Kilagården, vilken bestod av 21 djur. Viktdifferensen ökade under 1:sta halvåret mycket snabbt, så att den vid dettas slut uppgick till $26 \pm 3,1$ kg. Ökningen fortsatte ytterligare, om ock i alltmera avtagande grad, tills vid 4:de halvårets slut en viktskillnad av $48 \pm 6,7$ kg förefanns. Under sista halvåret visade differensen en mindre tendens till nedgång, vilken dock var alltför obetydlig för att vara signifikativ. Populationen vid Ultuna föredde sålunda under hela uppvärten en betydligt högre vikt än den vid Kilagården förefintliga.

Som skillnaden i födelsevikt mellan de båda populationerna endast uppgick till $3,4 \pm 0,8$ kg, medan skillnaden i slutvikt uppgick till ej mindre än $47 \pm 9,1$ kg, var deras tillväxt väsentligt olika. Den vid Ultuna till 30 månaders ålder erhållna tillväxten uppgick sålunda till 467 kg, medan motsvarande tillväxt vid Kilagården endast uppgick till 423 kg. Till viss del kan skillnaden i tillväxt anses sammanhänga med den förefintliga skillnaden i födelsevikt, i det även inom samma besättning en olikhet i födelsevikt åtföljes av en olikhet i till-

växt under den följande utvecklingen. Hela denna tillväxt-differens kan dock ej förklaras, enbart av olikheten i födelse-vikt utan måste delvis sättas i samband med olikheten i upp-födning. Att detta förhållande starkt medverkat framgår därav, att den procentuella tillväxten under skilda halvår eljest ej skulle hava uppvisat så betydande differenser, som fallet verkligen var. Detta synes tydligt av följande sammanställning.

	Procentuell tillväxt under olika halvår				
	1:sta	2:dra	3:dje	4:de	5:te
Ultuna	28,0	23,3	18,2	15,0	14,6
Kilagården	26,7	22,7	18,0	16,5	16,1

Vid Ultuna uppgick sålunda tillväxten under 1:sta halvåret till 28,0 % och under andra till 23,3 % av hela tillväxten, varför ej mindre än 52,2 % av denna inföll under 1:sta levnads-året. Vid Kilagården uppgick däremot tillväxten under 1:sta halvåret till 26,7 % och under andra till 22,7 %, varför endast 49,4 % av hela tillväxten inföll under första levnadsåret. Under sista året av den här undersökta delen av uppväxten, nämligen från 18 till 30 månaders ålder, utgjorde tillväxten vid Ultuna blott 29,6 % av hela tillväxten, medan den vid Kilagården uppgick till 32,6 %.

Denna olikhet i procentuell tillväxt under skilda levnads-perioder berodde enligt vad nyss anförts delvis på den i det föregående påvisade skillnaden i utfodring. Vid Ultuna var under 1:sta levnadsåret och i synnerhet under första delen av detta utfodringen starkare än vid Kilagården, medan under sista året av uppfödningen förhållandet var omvänt. Den större tillväxten vid Ultuna under 1:sta levnadsåret kunde dock ej tagas igen vid Kilagården under sista året, varför totala tillväxten liksom levande vikten vid uppfödningens slut blev lägre än vid Ultuna.

Dessa förhållanden synas inverka mycket starkt på ungdjurs-uppfödningens resultat. Om detta skall bliva så gynnsamt

som möjligt, måste nämligen den konstitutionellt betingade tillväxtförmågan utnyttjas relativt fullständigt. Som denna förmåga hos ungdjuren uppenbarligen är betydligt större under första delen av levnaden än senare, är det framför allt av vikt, att den då utnyttjas så väl som möjligt. Sker ej detta, blir djuret givetvis efter i utvecklingen. Vad som härvid förloras synes senare endast ofullständigt kunna tagas igen, *enär förmågan av tillväxt är starkt bunden vid tiden och följaktligen endast i ringa grad kan ackumuleras i och för utnyttjande under en följande del av uppväxten.*

Av undersökningen framgår vidare, att födelsevikten var positivt korrelerad med vikten vid senare ålder. Korrelationens styrka avtog med stigande ålder, så att den vid 30 månaders ålder framträdde relativt svagt. Korrelationen berodde främst på att djur med hög födelsevikt under första delen av levnaden visade en starkare tillväxt än övriga, varför viktskillnaden mellan djur med hög och låg födelsevikt betydligt ökade under denna tid. Under senare delen av uppväxten syntes däremot ingen påvisbar skillnad i tillväxt förefinnas mellan djur med olika födelsevikt. En viss mindre tendens till utjämning av den tidigare viktskillnaden kunde i stället konstateras mot slutet av uppväxten, ehuru fortfarande vid 30 månaders ålder djur med hög födelsevikt i medeltal visade väsentligt högre vikt än djur med låg födelsevikt.

Dessa förhållanden medförde, att djur med hög födelsevikt företedde större procentuell tillväxt under levnadens första del än djur med låg födelsevikt, medan under sista delen av uppväxten förhållandet var omvänt. Detta framgår närmare av sammanställningen å följande sida.

Vid Ultuna utgjorde sålunda hos gruppen med hög födelsevikt 1:sta halvårets tillväxt 29,7 %, medan denna hos gruppen med låg födelsevikt endast uppgick till 28,8 %. Vid Kilagården voro motsvarande procenttal 27,6 och 25,9. Under sista halvåret var däremot förhållandet omvänt, i det vid Ultuna tillväxten hos gruppen med hög födelsevikt endast uppgick till 14,2 %, medan den hos gruppen med låg födelsevikt uppgick

	Total tillväxt, kg	Procentuell tillväxt under olika halvår				
		1:sta	2:dra	3:dje	4:de	5:te
Uttuna:						
hög födelsevikt . . .	471	29,7	23,4	18,1	14,6	14,2
låg " . . .	462	28,8	22,7	18,4	15,4	14,7
Kilagården:						
hög födelsevikt . . .	428	27,6	22,0	17,7	16,8	15,9
låg " . . .	420	25,9	23,1	17,9	16,2	16,0

till 14,7 %. Vid Kilagården uppgick i de båda fallen tillväxten under samma halvår till 15,9 resp. 16,9 %.

Med högre födelsevikt följde sålunda ej blott en större absolut tillväxt utan även en större relativ tillväxt under första delen av uppväxten. Under senare delen av denna var däremot den absoluta tillväxten tämligen oberoende av födelsevikten, medan den relativa tillväxten avtog med stigande födelsevikt. Uppenbarligen möjliggjorde en högre födelsevikt en ej blott absolut utan även relativt sett starkare foderupptagning under 1:sta halvåret. Följden härav blev en motsvarande ökning för såväl den totala tillväxten som för vikten på fullvuxet stadium. Dessa resultat visa sålunda betydelsen av att för uppfödning kalvar med hög födelsevikt utväljas. Ävenså torde härav framgå vikten av att de dräktiga korna skötas och fodras så, att kalvarna vid födelsen äro väl utvecklade, enär dessa härigenom erhålla den bästa startmöjligheten.

Under hela uppväxten syntes en mindre positiv korrelation ($r = +0,298 \pm 0,0915$) förefinnas mellan vikten vid en viss ålder och tillväxten under närmast följande halvår. Till grund för denna korrelation låg uppenbarligen samma förhållande, som nyss anfördes för födelsevikten, i det en högre vikt utgjorde en förutsättning för en större foderupptagning och därav följande starkare tillväxt under det följande halvåret. Korrelationens jämförelsevis ringa styrka angiver, att i detta förhållande betydande störningar förekommo. På grund härav kunde sam-

bandet endast göra sig gällande under relativt kort tid framåt. Härtill torde även det förhållandet hava bidragit, att utfodningsnormen något höjts för djur, som mera påtagligt blivit efter i utvecklingen.

Med avseende på tillväxten under varje särskilt halvår och vikten vid samma halvårs slut visar undersökningen, att detta samband var positivt och av betydande styrka under hela uppväxten. Särskilt starkt var detta mellan tillväxten under 1:sta halvåret och vikten vid samma halvårs slut. Även det vid senare ålder förefintliga sambandet mellan dessa karaktärer var dock betydande, varför varje halvårs tillväxt i betydligt högre grad var utslagsgivande för vikten vid samma halvårs slut, än vad vikten vid halvårets början var för tillväxten under detta.

Av undersökningen framgår vidare, att tillväxten under 1:sta halvåret starkt invercade på vikten under hela den återstående delen av uppväxten. Sambandet avtog i styrka under utvecklingens fortgång, ehuru det fortfarande vid 30 månaders ålder gjorde sig i hög grad gällande. Olikheten i tillväxt under 1:sta halvåret syntes dock ej i påvisbar grad åtföljas av motsvarande olikhet under senare halvår. På grund härav visade den procentuella tillväxten under de olika halvåren nära samband med tillväxtens absoluta storlek under 1:sta halvåret, såsom följande sammanställning tydligt angiver.

	Total tillväxt, kg	Procentuell tillväxt under olika halvår				
		1:sta	2:dra	3:dje	4:de	5:te
Ultuna:						
hög tillväxt	479	31,5	22,8	17,1	14,4	14,2
låg "	456	27,2	23,5	19,1	15,5	14,7
Kilagården:						
hög tillväxt	435	28,1	22,8	17,7	17,0	14,9
låg "	413	25,7	22,7	17,9	16,0	17,7

Härav framgår, att vid Ultuna hos gruppen med hög tillväxt under 1:sta halvåret ej mindre än 31,5 % av hela till-

växten inföll under detta halvår, medan endast 14,2 % kom på sista halvåret. I gruppen med låg tillväxt under 1:sta halvåret uppgick däremot tillväxten under detta endast till 27,2 % av hela tillväxten, medan 14,7 % inföll under sista halvåret. Vid Kilagården uppgick tillväxten i den grupp, där denna var hög, under 1:sta halvåret till 28,1 % och under sista halvåret till 14,9 % av hela tillväxten, medan i gruppen med låg tillväxt denna under första halvåret uppgick till endast 25,7 % men under sista halvåret till 17,7 %.

Med hög absolut tillväxt under första halvåret följde sålunda ej blott hög total tillväxt och hög vikt vid uppväxtens slut utan även hög procentuell tillväxt under 1:sta halvåret. Detta resultat överensstämmer fullständigt med det vid födelseviktens behandling anförda. Det kan därför anses klart framgå, att om största möjliga totala tillväxt och slutvikt hos djuret skall uppnås, åtgärderna främst måste inriktas på 1:sta halvåret, så att djurets tillväxtenergi under detta utnyttjas så fullständigt som möjligt. *Ju större procentuell del av hela tillväxten, som infaller under detta halvår, desto bättre slutresultat uppnås sålunda vid ungdjurens uppfödning.*

I sista delen av undersökningen behandlas sambandet mellan tillväxten under olika halvår. Som detta samband endast i ringa grad framträdde under omedelbart på varandra följande halvår och ej i påvisbar grad gjorde sig gällande i övriga fall, torde de tillväxtreglerande, konstitutionellt grundade faktorerna huvudsakligen visa sin verkan, om förhållandena i fråga om utfodring och skötsel bliva så gynnsamma, att utvecklingen starkt forceras. Som detta endast under relativt begränsade perioder synes hava varit fallet, har sambandet mellan tillväxten under olika halvår endast svagt framträtt.

Variation in the Length of the Ascospores in *Plectania protracta* (Fr.) Gelin and *Plectania* *coccinea* (Scop.) Fuckel.

By OLOV E. V. GELIN.

The Institute of Plant Systematics and Genetics.

In dealing with the Scandinavian herbarium material of *Plectania protracta* (Fr.) GELIN (GELIN, 1938) and *Pl. coccinea* (Scop.) Fuckel a palpable difference in the size of the spores could be noted in the former species between the Northern European and Southern European (i. e. the Hungarian) specimens. It seemed as if we had to do with a northern and a southern race, separated from one another by different size of spores. In order to ascertain if this was really the case, or merely a result of chance, the collections at Berlin, Breslau and Budapest were requisitioned and gone through.

The method employed in the measurements is seen from the following. A Leitz object micrometer was reproduced with an Abbe camera lucida on a paper and a precise drawing was then made. The optic was an objective 20 \times and an ocular Peripl. 10 \times B. All measurements were then made with the same optic and with the micrometer copy at the same distance between the table and the Abbe-apparatus. The fungi were moistened with water and a slide prepared, likewise with water. It should perhaps be pointed out that no difference in the size of the spores was found between material preserved in alcohol and dried material.

Twenty measurements were made on each specimen, and as far as the material permitted, two specimens from each col-

lection were dealt with.^{*} The class distribution is seen from the tables and the means in round figures are set out in the right column. En passant it should be pointed out that the exceptional values which have sometimes been obtained, up to 69 μ , probably are derived from anomalous spores, which, as we know, may be formed in several ways at the divisions and the spore formation in asci.

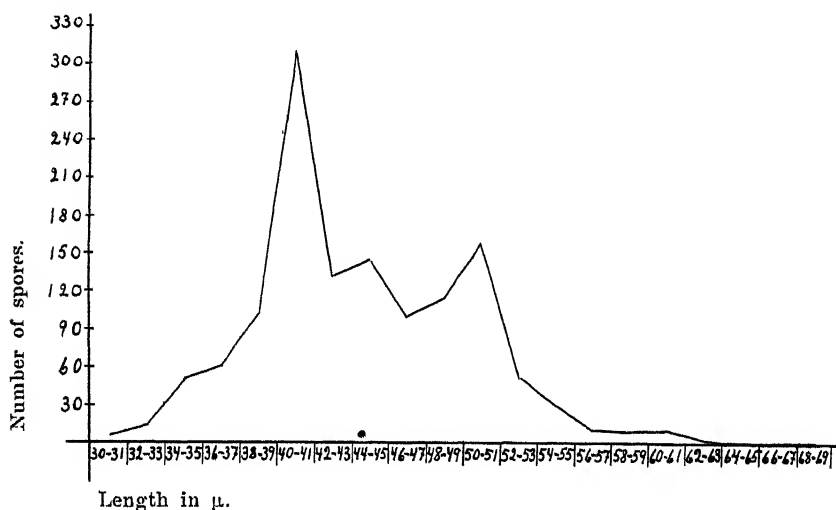


Fig. 1. Length variation of the ascospores of *Plectania protracta* coll.

The curve (fig. 1) plotted of the variation of the length of spores in *Pl. protracta* displays an appearance greatly differing from a normal variation curve, with two pronounced modes. If this curve is compared with the normal variation curve of the length of spores in the kindred fungus *Pl. coccinea* (Fig. 3) one gets at once the impression that the *Pl. protracta* material has not been uniform but embraced various lines with different mean values for the length of the ascospores. From table 1 one can at least partly get an explanation of this irregularity. It is here seen that a definite part of the material dealt with occupies a decided left position in the table, with low mean values and a distribution of the spores within

the lowest size-classes. It is the Hungarian and Czechoslovakian individuals which occupy this pronounced left location in the table. All the others, from Scandinavia, from Germany and the Siberian collection, have another, fairly uniform grouping. If from the summation curve (fig. 1) the results for the Hungarian and Czechoslovakian individuals are excluded, these form, as is seen from fig. 2, a quite normal variation curve, while the remaining ones form a curve with two modes and with a maximum at 50–51 μ .

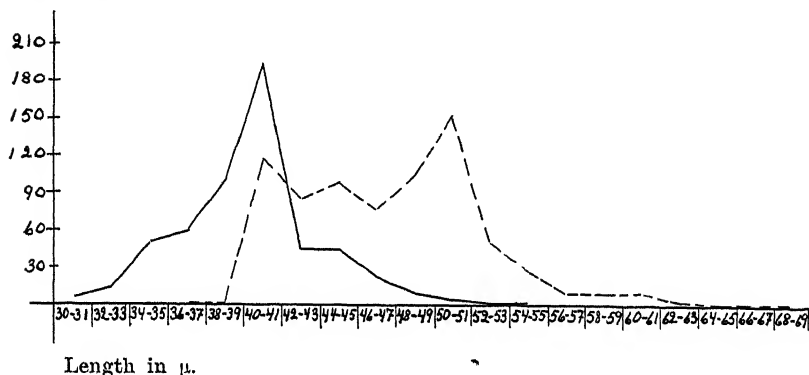


Fig. 2. Length variation of the ascospores of *Pl. protracta* — — — and *Pl. protr. var. Wintéri* —.

The special position which the Hungarian and Czechoslovakian material occupies in the table coincides in all parts with a well delimited geographical area of distribution, viz. Western Hungary, with Budapest, comitat Fejér and comitat Győr, as well as the neighbourhood of Brünn. It seems as if the border between the areas of distribution of the two forms of this species were formed by the Carpathians, the Hohe Tatra and the Sudetic Mountains, and in the west by the Bohemian-Moravian highlands and the eastern parts of the Alps. Already immediately north of the Sudetic Mountains, at Ottmachau, the large-spore type is met with.

The curve for the large-spore form (fig. 2) shows a course on the whole similar to the summation curve. To give a

satisfactory explanation of this considerable variation with three maxima, is impossible. When studying the table it does not appear probable that also in this instance we have to do with

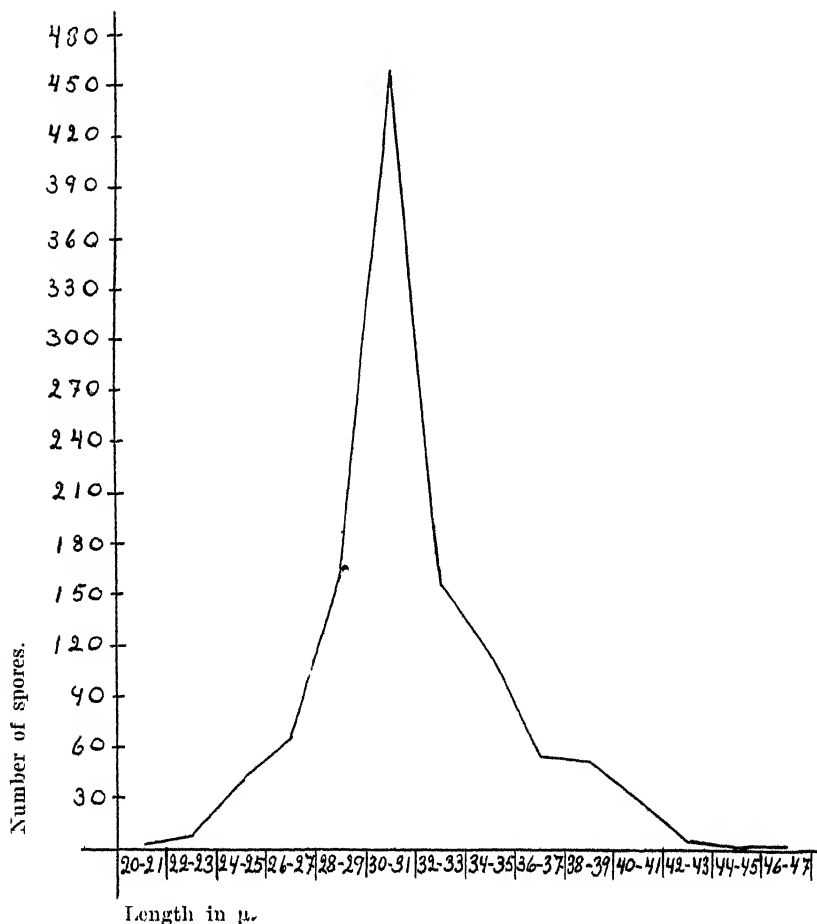


Fig. 3. Length variation of the ascospores of *Pl. corvinea*.

a material that is not uniform, because in such case both forms would occur intermingled within the same areas. By way of example may be mentioned the six individuals from Ottmarchau, which were gathered on the same day, and have a length of

spore varying between $M = 44-49 \mu$. It seems to the author as if this variation would not find its explanation in the different degree of ripeness of the specimens or »difference of species» but to be due to the different prospects of life for the individuals to attain their maximal development, whether it relate to the influence of competition or other exterior conditions. In support of this opinion may be held forth the author's own finds from Stymningsvik, in 1934 and 1935. — It should be pointed out that only one individual was met with each year. — The individual from 1934 was a big, well-developed and fully ripe specimen, with a length of spores of $M = 55$, whereas the 1935 find on precisely the same spot was an overripe, poor specimen of this beautiful fungus, with a length of spores of $M = 49$, i.e. a difference between the mean figures of no less than 6μ . This explanation does not, however, give us any assistance to understand the cause for the course of the curve, but we must leave its interpretation open.

As a species beside *Anthopeziza (Sclerotinia) baccata* FÜCKEL (= *Plectania protracta* (FR.) GELIN), v. WETTSTEIN (1885) set up *A. Winteri*. He points out (l.c.) the great similarity between FÜCKEL's fungus and his own *A. Winteri*, but emphasises: »*A. baccata* FÜCKEL unterscheidet sich von *A. Winteri* m. insbesondere durch den längsfaltigen, kleineren Fruchtkörper, den kleineren, im Alter mehr ausgebreiteten Becher, die breiteren Schläuche und bedeutend grösseren Sporen.» In v. WETTSTEIN's diagnosis it says: »Sporæ octo . . . 33—35 Mikromm. longæ, 11—13 Mikromm. latæ», whereas Fückel has »sporidiis . . . omnium Pezizearum maximis . . . 52 Mikromm. longis, 20 Mikromm. crassis.» Since its description *A. Winteri* has hardly been considered as a species of its own but as a synonym for some one of the other 11 names with which this fungus has been endowed.

HEIM (1925) has drawn up a table of the spore values stated by several authors, which I render here in extenso:

Fuckel	52	×	20
Rabenhorst	36—46	×	14—15
Karsten	36—58	×	15—17
v. Wettstein	33—35	×	11—13
Saccardo (after Karsten) . . .	42—48	×	15—17
Philips (after v. Wettstein) . .	33—35	×	11—13
Rehm	36—40	×	15—17
Schröter	40—55	×	15—17
Heim and Remy	41—55	×	16—21

As is seen, the values are rather variable, but it is only v. WETTSTEIN's measurements which are in a class by themselves. If we compare these values with the author's own, the agreement is good between on the one hand v. WETTSTEIN and the Hungarian, on the other hand between those of the other authors and the extra-Hungarian statements of size.

»L'étude comparative des dimensions de spores données par les auteurs, montre que l'opinion de v. WETTSTEIN, qui sépare l'*A. Winterni* de l'*A. baccata* en s'appuyant notamment sur des différences de grosseur des spores, n'est pas fondée.» (HEIM 1925 p. 456). It is, of course, impossible from such a table as the one cited above to get an idea of the frequency within the different size-classes and, therefore, of the significance of the mean values, and therefore we are not justified, like HEIM, to deny the value of v. WETTSTEIN's observation.

The author's table shows, as pointed out above, an outstanding difference between the Hungarian-Moravian material and the remainder. The small-spore group with the mean values of 35—44 is joined by *A. Winterni*. Furthermore, the locality for *A. Winterni*, Lower Austria, Saugraben at Rodan, comes within the distribution area, Western Hungary and Moravia, which without exception has proved to be the native home of the small-spore form.

As to the breadth of the spores, a certain though not so very palpable difference, can be traced. In the subjoined tables each unit represents the mean figure of 20 measurements for

each individual. As is seen from the table for *Pl. protracta*, the Hungarian-Moravian material is represented by the mean values 14—16, and the remainder by 14—18.

Pl. protracta.

Breadth of spores . .	14	15	16	17	18 μ
Hungary-Moravia . .	3	11	14		
Others . . .	7	10	7	13	1
Total . . .	10	21	21	13	1

Pl. coccinea.

Breadth of spores . .	10	11	12	13	14 μ
Total . . .	18	23	13	3	1

The conformity that has been obtained, firstly through the measuring results gained, and secondly through the limited distribution, makes it clear that in all probability one may maintain that the Hungarian type of *Pl. protracta* is essentially different from *protracta* in the rest of Europe. To set it up, like v. WETTSTEIN, as a species of its own, may certainly be debated and depends of course upon what attitude to the conception of species one adopts. It seems to me nevertheless justified to consider the same as a variety of *Pl. protracta*, for which reason it should be termed

Plectania protracta var. *Winteri* (WETTSTEIN) GELIN. Sporæ ellipticæ, 30—50 (med. 40.5 μ) longæ, 14—16 μ latæ. Habitat in Hungaria occidentali, Austria inferiore et Moravia.

»Aber wie bei den Phanerogamen durch geographische Isolierung leicht die Bedingungen für Neubildungen entstehen können, so könnte wohl auch bei den Pilzen ein Gleiches geschehen, z. B. in weit voneinander getrennten Gegenden ein und dieselbe Art in morphologisch differenzierte Parallelrassen umgeprägt werden» (RYTZ, 1927 p. 1). »Den Anstoss zu solchen Formbildungen können wohl sehr verschiedene Faktoren gegeben haben, u.a. jedenfalls auch klimatische.» »Ich bin auch in dieser Hinsicht mit Turesson einverstanden, dass das Artproblem

in erster Linie ein ökologischer Problem ist.⁸ (l.c. p. 8). It does not seem improbable that in the case of *Pl. protracta* we have to do with similar parallel strains, ecotypes. The results gained in this investigation point in this direction. In *Peronospora*, *Uredinæe* and other parasitic fungi the classification and establishing of small species becomes fairly easy through their pronounced specialisation in regard to the host-plant, and, at least in some cases, by their significant mean values in respect of the size of spores in the different lines. In saprophytes like *Pl. protracta* we lack really altogether such a distinctiveness as a specialisation entails, and we have only some morphological detail or other to go by. This may, however, show, as in *Pl. protracta*, that the species also within such a group of plants is subject to the influence of the transforming and formative factors, and that the species does not consist of a uniform collection of individuals but is composed of various ecotypes.

Sammanfattning.

Undersökningen över sporlängdens variation hos här berörda svampar tillhörande pezizacéernas familj, visar att arten *Plectania protracta* icke är enhetlig utan omfattar två olika typer, nämligen en storsporig form, *Pl. protracta*, med en mycket stor geografisk utbredning i Sibirien, norra och mellersta Europa samt möjligen Nord-Amerika (endast ett fynd), och en småsporig, *Pl. protracta* var. *Winteri*, vars utbredning av det till buds stående materialet att döma är begränsad till västra Ungern, Mähren och Nieder-Oesterreich. Gränsen mellan de bågge formerna kan dragas vid Karpaterna, Sudeterna, Böhmsk-Mähriska höglandet och Alpernas östra delar. Variationskurvan för *Pl. coccinea* däremot tyder på fullständig konformitet inom arten.

Hos *Peronospora*, uredinéer och andra parasitsvampar blir klassifikationen och uppställandet av småarter tämligen lätt genom deras utpräglade specialisering i fråga om värdväxten

och åtminstone i vissa fall genom deras signifikativa medelvärden i fråga om sporstorleken hos de olika linjerna. Hos saprofyter som *Pl. protracta* saknar man ju fullständigt en dylik pregnans som en specialisering medför och man har bara en eller annan morfologisk detalj att stödja sig på. Denna kan dock som hos *Pl. protracta* visa, att arten även inom en dylik växtgrupp är underkastad de omdanande och formbildande faktorernas inverkan och att arten icke består av en enhetlig samlig individ utan är sammansatt av olika ekotyper.

References.

- GELIN, Ö. E. V., 1938. The Distribution in Scandinavia of *Plectania protracta* (FRIES) GELIN, comb. nov. and *Plectania coccinea* (Scop.) FRICKEL. — Det Kongel. Norske Vidensk. Selsk:s Forhandlinger, Bd 10.
- HEIM, R., 1925. Fungi Brigantiani. — Bull. Trimestr. Société Mycologique de France, T. 41.
- RYTZ, W., 1927. Einige Beobachtungen an Uredineen gesammelt an der 4. I. P. E. — Veröffentl. d. Geobotanisch. Inst. Rübel in Zürich, H. 4.
- WETTSTEIN, R. v., 1885. *Anthopeziza* novum genus Discomycetum. — Verhandl. d. K. K. Zoolog.-Botan. Gesellschaft in Wien, Bd 35.

(MS. received Oct. 17th 1938.)

Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radicicola*. III.

Von RAGNAR NILSSON, G. BJÄLFVE und DAGMAR BURSTRÖM.

Aus dem Institut für Mikrobiologie.

In einer vorhergehenden Mitteilung (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938) haben wir kurz eine Erscheinung erwähnt, die in der vorliegenden Arbeit etwas eingehender behandelt werden soll. Wie wir schon damals beobachteten, treten in den von uns beschriebenen Wachstumsversuchen bei Zugabe von Vitamin B₁ unter Umständen auffallend grosse Formen von *B. radicicola* auf (l. c., S. 311). Dies zeigt sich sowohl in den Kombinationsversuchen mit Vitamin B₁ und Ätherextrakt aus Hefe als besonders in den Kombinationsversuchen mit Vitamin B₁ und Amylalkoholextrakt aus Hefe.

Im folgenden haben wir ausschliesslich mit einem Amylalkoholextrakt aus Hefe gearbeitet, der in der früher angegebenen Weise (l. c., S. 309) dargestellt worden war und pro ml einen Trockengewicht (105°) von 4,75 mg und einen Glührückstand von 0,70 mg hatte. Die Wachstumsversuche wurden genau in derselben Weise angestellt wie in unseren früheren Arbeiten. So wurde auch zu diesen Versuchen der von uns früher studierte Stamm von *B. radicicola* (*Trif. pratense*) benutzt. Als Nährboden diente das synthetische Medium von Allison mit KNO₃ als Stickstoffquelle. Während des Wachstums wurden die Proben im Brutzimmer bei 24° im Dunkeln aufbewahrt.

Nach 14 Tagen, wo nach unserer Erfahrung das Wachstum als Regel beendet ist, wurden die Proben unter Verwendung folgender Methoden charakterisiert:

[illegible]

Table 2

Country	Locality	Date	Collector	Exsicc. viz	Herbarium	Numbers of spores															
						20-21	22-23	24-25	26-27	28-29	30-31	32-33	34-35	36-37	38-39	40-41	42-43	44-45	46-47	Average	
Canada	Ont. London	Spring 1912	Deaness		Stockholm				2	3	3	10	1		1						29
U.S.A.	Iowa City, Turkey creek	4 1905	F. J. S.		"						1	16	2	1							31
	Iowa, Decorah	4 1880	E. W. Holway	Ellis North America Fungi 134	Berlin							5	2	2	2	4	3	1	1		36
Norway	Wisconsin, Madison				"							2	4	6	4	2	2				33
	Akershus, Asker	14/5 1879	Kaalaas		Oslo							1	11	5		1	1	1			32
	"	10/1 1933	P. Stormer		"				1			2	11	5		1					31
	"	9/5 1937	J. Jorstad		"							3	10	3	3		1				31
	"	9/5 1928	P. Stormer		"				1	2	6	7	2				2				30
Sweden	Buskerud, Nedre Eiker		J. M. Norman		"				1		4	10	1	2	2						31
	"	31/5 1933	K. Breien		"					1	7	10	2								30
	Dalarna, Avesta, Strommas	10/6 1879	Indebetun		Copenhagen				2	7	1	7		1	2						29
	Uppland, Lanna	10/4 1927	A. Kjelland-Arwidsson et Th. Arwidsson		Stockholm	1	2	3		5	7	2									29
	"	11/1 1935	E. Aberg		J. A. Nannfeldt, Uppsala							7	7	4	1	1					33
Finland	Bohuslan, Uddevalla	1894	P. Lausson		Uppsala					1	4	10	1	2		2					31
	Skane, Gualov	1/5 1937	A. Nilsson		J. A. Nannfeldt, Uppsala				1	3	9	1	5	1							31
	Pojo, Brödtorp	11/5 1861	E. Hisinger		Helsinki				1		5	7	2	1		3	1				32
	"	"	"		"				1		4	7	1	4			3				32
	"	"	"		"						1	5	5	3	1	5					36
U.S.S.R.	Smolensk	1895	M. Sibus		Berlin							1	4	5	1	2	3	1			36
	Perkassko, Kievslja		Alexrenko		Stockholm							1	4	5	1	2	3	1			36
	Kaukasus, Terek	12 21/1 1897			"					1	2	11	2	4							31
	"	1888	P. Comath		Budapest					1	1	12	5					1			31
	"		C. B. P.		Berlin				2	1	6	6	1	2	2						30
Great Britain	Ipswich	1873			"						1	14	2	2	1						31
	Norfolk		M. C. Cooke	Fungi Brit. exs. 651	"							4	11	2							29
	Ipswich				Uppsala	3	5	5	4	2	1										26
	Fautrey	1895			"	3	5	3	2	5	1	1									27
	Coteau en face de Champvaudon	4 1880	Quéret		Budapest						4	8	7			1					31
France	Choilly (Seine-et-Marne)	2 1883	Peuillaubois	G. Rommeguere Fungi Gall. exs. 2562	"																
	"	"	"		Berlin							3	7	2	1	4	3				33
	"	"	"		"							3	6	3	3	4	1				33
	"	"	"		Breslau							16	1	3							31
	"	"	"		"							3		1		5	8	2	1		39
Germany	Corelles (Neuhofel)	"	Morthin		"							3	7	2	1	4	3				33
	Furstenstein	"	Stein		"																31
	"	"	"		"																31
	"	"	"		"																31
	"	"	"		"																31
Czechoslovakia	Rastatt	11/1 1873			"																29
	Mähren, Weisskirchen	9/1 1919	F. Petrak	F. Petrak Flora Bohem et Morav. exs. 1199	Budapest							2	7	5	3	2	1				32
	Schemnitz				Stockholm							2	4	10	3	1					30
	West-Beskiden	5 1923			Lund	1	2	1				9	3	3	1						31
	"	"	"		"								8	7	3	1	1				33
Austria	Tirol, Stubai-tal	4	V. Litschauer	Kryptogam exs. ed. a Mus. H. Nat. Vind. 2828	Lund					1	6	5	3	4	1						31
	"	"	"		"																31
	"	"	"		"																31
	"	"	"		"																31
	"	"	"		"																31
Hungary	Ober-Oesterreich, Wels, Lambach	11/1 1920	Sauter		Copenhagen							1	3	7	5	1	2	1			32
	Wiener-Neustadt, Rosalingbg	11/1 1929	H. Huber		Berlin							10	2	6	1	1	1				33
	Steyr		Sauter		Uppsala				1	1	4	6	2	1	1	1					30
	"	"	"		Breslau							4	4	6	1	5					34
	"	"	"		Berlin							4	5	4	2	2	3				35
Yugoslavia	Budapest, Zugliget	3 1919	J. Bakos et Mágocsy-Dietz		Stockholm	3	1	3	0	4	3										26
	"	"	"		Budapest							5	10	4	1						30
	Pannonhalma	15/5 1923	R. Károlyies		"							5	8	7							29
	Pilisteto	10/5 1930	L. Kajda		"							2	12	1	2	1	2				32
	Kőszeg, in the valley Kalcigabem	11/4 1933	A. Vlasny	Fl. Kryptog. Cottus castrif. 25	"							7	4	2	2	3	2				34
Romania	Transsylvania, Gyulafehérvár	11/5 1857	L. Haynald		"							1	5	5	3	4		2			32
Portugal	Jaize in Bosnien	4 1901	v. Hühnel	Rhem: Ascomyc. 1404	Stockholm							1	2	6	4	5	2				32
	"	"	"		"																33
	"	"	"		"																33
	"	"	"		"																33
	"	"	"		"																33
Greece	Gjebobroi	11/11 1887	"		"							1	2	6	10		1				29
	Topóider	11/5 1910	"	Pilze Serbiens	Stockholm				2	2	3	8	2	2			1				30
	Slavonia, Zvečovo	"	K. Stojtznar		Copenhagen				1	7	5	7									28
	"	"	"		"				2	1	6	10	1								29
	"	"	"		"				2	1	4	13	2	1							30
Portugal	Belgrad, Ranojević	10/5 1905	"		"																30
	Coimbra, Balesa	"	"		Budapest				2	2	6	8	1	1							30
	"	"	"		"																30
	"	"	"		"																30
	"	"	"		"																30
						Σ	8	9	41	66	164	459	167	117	55	51	31	5	1		

1. Direkte mikroskopische Zählung.
2. Bestimmung des Extinktionskoeffizienten.
3. Makrophotographische Aufnahme der Trübung.
4. Mikrophotographische Aufnahme der Bakterienzellen.

Wir teilen zuerst die nach 1 und 2 erhaltenen Ergebnisse mit. Die mikroskopische Zählung der Bakterienzellen wurde wie in unseren früheren Mitteilungen beschrieben vorgenommen. Die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten geschah im Pulfrich-Photometer.

Einfluss von Vitamin B₁ auf Bakterienzahl und
Trübungsgrad.

Versuch	Amylalkoholextrakt in γ pro ml ¹	Vitamin B ₁ in γ pro ml	Millionen Bakterien in 1 ml	Extinktions- koeffizient	Extinktions- koeffizient Bakterien- zahl 10 ¹⁰
I	—	—	4	0,002	5,0
	—	—	6	0,003	5,0
II	—	0,08	35	0,081	9,7
	—	0,08	30	0,081	10,3
III	0,8	—	30	0,010	3,3
	0,8	—	25	0,010	4,0
IV	0,8	0,08	30	0,052	17,3
	0,8	0,08	40	0,065	16,3
V	1	—	210	0,072	3,1
	4	—	260	0,085	2,5
VI	1	0,08	220	0,200	9,1
	4	0,08	220	0,180	8,2
VII	40	—	600	0,372	6,2
	40	—	630	0,399	6,3
VIII	40	0,08	570	0,459	8,1
	40	0,08	640	0,465	7,3
IX	400	—	430	0,472	11,0
	400	—	410	0,505	12,3
X	400	0,08	430	0,470	10,9
	400	0,08	410	0,511	12,5

¹ Auf aschefreie Substanz bezogen.

1. Direkte mikroskopische Zählung.
2. Bestimmung des Extinktionskoeffizienten.
3. Makrophotographische Aufnahme der Trübung.
4. Mikrophotographische Aufnahme der Bakterienzellen.

Wir teilen zuerst die nach 1 und 2 erhaltenen Ergebnisse mit. Die mikroskopische Zählung der Bakterienzellen wurde wie in unseren früheren Mitteilungen beschrieben vorgenommen. Die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten geschah im Pulfrich-Photometer.

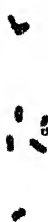
Einfluss von Vitamin B₁ auf Bakterienzahl und Trübungsgrad.

Versuch	Amylalkohol-extrakt in γ pro ml ¹	Vitamin B ₁ in γ pro ml	Millionen Bakterien in 1 ml	Extinktions- koeffizient	Extinktions- koeffizient 10 ¹⁰ · Bakterien- zahl
I	—	—	4	0,002	5,0
	—	—	6	0,008	5,0
II	—	0,08	35	0,084	9,7
	—	0,08	30	0,081	10,8
III	0,8	—	30	0,010	3,8
	0,8	—	25	0,010	4,0
IV	0,8	0,08	30	0,052	17,8
	0,8	0,08	40	0,085	16,8
V	4	—	210	0,072	3,4
	4	—	260	0,065	2,5
VI	4	0,08	220	0,200	9,1
	4	0,08	220	0,180	8,2
VII	40	—	600	0,872	6,2
	40	—	630	0,899	6,8
VIII	40	0,08	570	0,459	8,1
	40	0,08	640	0,465	7,8
IX	400	—	430	0,472	11,0
	400	—	410	0,505	12,8
X	400	0,08	430	0,470	10,9
	400	0,08	410	0,511	12,5

¹ Auf aschefreie Substanz bezogen.



I



II



III

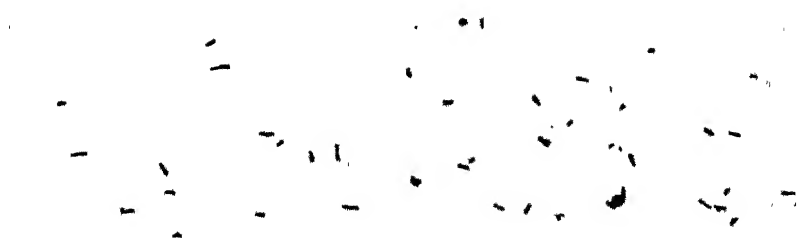


IV



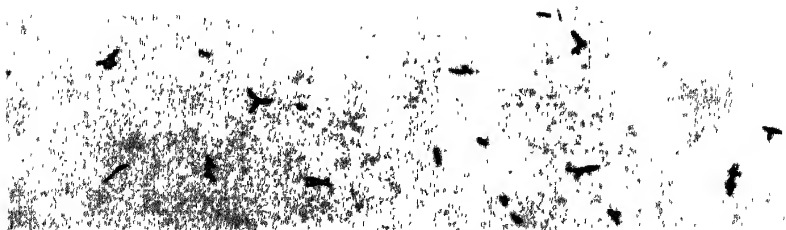
V

VI



VII

VIII



IX

X



Versuch	Amylalkoholextrakt in γ pro ml	Vitamin B ₁ in γ pro ml
I	—	—
II	—	0.08
V	4	—
VI	4	0.08

Nach der Tabelle können wir zunächst feststellen, dass der Amylalkoholextrakt schon an sich bei mässigen Konzentrationen ein ziemlich starkes Wachstum bewirkt. Bei einer Konzentration von 40 γ Amylalkoholextrakt pro ml ist die optimale Wirkung erreicht; eine weitere Konzentrationssteigerung um das Zehnfache führt zu einer leichten Abnahme der Bakterienzahl.

Wenn jetzt gleichzeitig mit dem Amylalkoholextrakt Vitamin B₁ zugeführt wird, ändert dies in den hier studierten Fällen an der Grösse der Bakterienzahl nichts. Dagegen hat die Zufuhr von Vitamin B₁ einen ausgesprochenen Einfluss auf die Trübung der Bakteriensuspensionen. Diese Wirkung des Vitamins macht sich besonders stark in den Versuchen mit niedrigen Konzentrationen von Amylalkoholextrakt geltend, wie in den Versuchen IV und VI, wo durch die Vitaminzugabe bei unveränderter Bakterienzahl der Extinktionskoeffizient um ein Mehrfaches steigt. Bei grösseren Konzentrationen von Amylalkoholextrakt wie in Versuch VIII ist die Einwirkung der Vitaminzugabe weniger stark ausgeprägt. Bei Überschuss von Amylalkoholextrakt schliesslich (Versuch X) hat Zugabe von Vitamin B₁ keinen Einfluss weder auf die Vermehrung der Bakterien noch auf den Trübungsgrad der Bakteriensuspension.

Um die Wirkung des Vitamins auf die Trübung der Bakteriensuspensionen noch weiter zu veranschaulichen, werden hier einige makrophotographische Aufnahmen der Kulturen wiedergegeben. Wie ersichtlich ist der Effekt so gross, dass er einfach bei Beobachtung der Proben sofort auffällt. (Tafel II.)

Wenn wir jetzt nach dem Grund dieser eigenartigen Wirkung von Vitamin B₁ suchen, liegt natürlich die Vermutung nahe, dass unter Einwirkung des Vitamins sich grössere Formen von *B. radicum* entwickeln als in den Proben, die nur eine Zugabe von Amylalkoholextrakt erhalten haben. Wir haben deshalb von sämtlichen Proben mikrophotographische Aufnahmen gemacht, die auf der beigelegten Tafel I wiedergegeben werden. Die Aufnahmen wurden in der Vergrösserung 950:1 an karbolfuchsingefärbten Präparaten vorgenommen. Die mikro-

skopisch beobachtete Grösse der Bakterien kann jetzt also mit den in der Tabelle niedergelegten Ergebnissen direkt verglichen werden. Besonders eignet sich dazu die letzte Kolumne der Tabelle, die der Quotient zwischen Extinktionskoeffizient und Bakterienzahl enthält. Vorausgesetzt, dass die Zunahme der Trübung lediglich auf einer Vergrösserung der Bakterienzellen bei gleichbleibender spezifischer Lichtdurchlässigkeit beruht, kann dieser Quotient als ein Mass der mittleren Bakteriengrösse betrachtet werden.

Wir schreiten jetzt zu der Musterung des gesamten Versuchsmaterials. Wir beschäftigen uns dabei zuerst mit den Versuchen ohne Vitaminzusatz. Aus der Tabelle ergibt sich bei dem Vergleich mit der Kontrolle (Versuch I), dass durch mässige Zugaben von Amylalkoholextrakt (Versuch III und V) die Grösse der Bakterienzellen eher abnimmt. Bei einer etwas grösseren Zugabe (Versuch VII) sollen die Bakterien etwa dieselbe Grösse haben wie in der Kontrolle. Bei Überschuss von Amylalkoholextrakt schliesslich sollen entschieden grössere Formen auftreten. Wenn wir uns jetzt der mikroskopischen Beobachtung zuwenden, dürfte man behaupten können, dass sich im grossen und ganzen die Aussagen der Tabelle bestätigen. Allerdings, über die Form der Bakterien besagt die Tabelle nichts. Wie wir aber mikroskopisch feststellen, gehen die etwas abgerundeten Bakterien der Kontrolle bei sukzessiv gesteigerten Zugaben von Amylalkoholextrakt in dünnere Stäbchen über, um schliesslich bei Überschuss von Amylalkoholextrakt zum Teil ein verzweigtes, an Bakteroiden erinnerndes Aussehen anzunehmen. Auf diese morphologische Erscheinung werden wir später (S. 58) zurückkommen.

Die Einwirkung von Vitamin B₁ enthüllt sich, nach der Tabelle zu beurteilen, ausschliesslich als eine Aktivierung von der Grösse der Bakterienzelle. Schon ohne Zugabe von sonstigen Wachstumsfaktoren bewirkt (wie wir ja schon aus unseren früheren Studien wissen) Vitamin B₁ ein bescheidenes Wachstum von *B. radlicicola*. Der Extinktionskoeffizient zeigt an, dass es sich hier auch um eine bedeutende Vergrösserung der

einzelnen Bakterienzelle handelt. Einen ausgesprochenen Einfluss auf die Grösse der Bakterienzellen hat nach der Tabelle Vitamin B₁ auch bei mässigen Konzentrationen von Amylalkoholextrakt. Je mehr die Konzentration der Kulturflüssigkeit an Amylalkoholextrakt steigt, um so weniger ausgeprägt tritt die Wirkung des Vitamins hervor. Bei Überschuss von Amylalkoholextrakt lässt sich in dieser Versuchsanordnung eine Wirkung des Vitamins überhaupt nicht nachweisen. Wie bei den soeben beschriebenen Versuchen ohne Vitaminzugabe können wir auch hier feststellen, dass die mikroskopische Beobachtung mit den Angaben der Tabelle einigermassen übereinstimmt. Von besonderem Interesse sind vielleicht die Versuche ohne Amylalkoholextrakt. In völliger Übereinstimmung mit der Tabelle zeigt hier die mikrophotographische Aufnahme, dass unter dem Einfluss der Vitaminzugabe erheblich grössere Bakterienformen auftreten. Bemerkenswert ist die deutlich wahrnehmbare polare Färbung. Aber auch in den Versuchen mit Amylalkoholextraktzusatz hält das mikroskopische Aussehen der Bakterien mit der nach der Tabelle beurteilten Grösse etwa gleichen Schritt. Die ausgesprochene, fördernde Einwirkung der Vitaminzugabe auf die mikroskopisch beobachtete Grösse der Bakterien, die bei kleineren Konzentrationen von Amylalkoholextrakt vorliegt, wird bei grösseren Konzentrationen von Amylalkoholextrakt weniger ausgeprägt. Die verzweigten, bakteroidenähnlichen Formen, die in den Proben ohne Vitaminzugabe erst bei Überschuss von Amylalkoholextrakt auftreten, finden sich bei Vitaminzugabe vereinzelt schon bei kleinen Konzentrationen von Amylalkoholextrakt.

Diskussion und Zusammenfassung.

Ein Amylalkoholextrakt aus Hefe vermag in dem gewöhnlichen, synthetischen Nährboden von Allison ein ziemlich kräftiges Wachstum von *B. radiculicola* (*Trif. pratense*) zu bewirken. Als ein völlig »normales» Wachstum kann dies aber wohl kaum bezeichnet werden. Bei optimaler Konzentration

von Amylalkoholextrakt bleibt nämlich die Bakterienzahl bei etwa 600 Millionen pro ml stehen, während ja, wie wir wissen, durch Zugabe von einem gewöhnlichen Hefe- oder Strohextrakt ein Wachstum von bis zu 2000 Millionen Bakterien pro ml erreicht werden kann. Bei Überschuss von Amylalkoholextrakt treten grosse Bakterienformen auf, die zum Teil an Bakteroiden erinnern. Der Quotient zwischen dem stufenphotometrisch ermittelten Extinktionskoeffizienten und der Bakterienzahl ändert sich in den verschiedenen Proben in dem gleichen Sinne wie die mikroskopisch beobachtete Grösse der Bakterien.

Wenn gleichzeitig mit dem Amylalkoholextrakt Vitamin B₁ zugegeben wird, bleibt dies in sämtlichen von den hier studierten Fällen ohne Einfluss auf die Bakterienzahl. Dagegen hat die Vitaminzugabe eine ausgesprochene Einwirkung auf die Trübung der Bakteriensuspensionen. Besonders ausgeprägt kommt diese Wirkung des Vitamins in den Proben mit niedrigen Konzentrationen von Amylalkoholextrakt zum Vorschein. Bei gleichbleibender Bakterienzahl steigt hier nach der Vitaminzugabe der Extinktionskoeffizient um ein Mehrfaches. Bei sukzessiv gesteigerten Zugaben von Amylalkoholextrakt macht sich der Einfluss des Vitamins entsprechend weniger geltend, und bei Überschuss von Amylalkoholextrakt schliesslich lässt sich keine Wirkung von der Vitaminzugabe mehr nachweisen. Der Quotient Extinktionskoeffizient/Bakterienzahl ändert sich auch hier einigermaßen proportional mit der mikroskopisch beobachteten Bakteriengrösse. Grosse, verzweigte Formen, die an Bakteroiden erinnern, treten in den Proben mit Vitaminzugabe schon bei niedriger Konzentration von Amylalkoholextrakt auf. Bemerkenswert ist schliesslich, dass auch ohne Zugabe von Amylalkoholextrakt Zusatz von Vitamin B₁ die Ausbildung von grossen, wenn auch nicht verzweigten Bakterienformen bewirkt.

Die hier also jetzt beschriebene eigenartige Wirkung von Vitamin B₁ auf das Wachstum von *B. radicola* lässt eine Fülle von Fragen entstehen, die bei unseren jetzigen Kenntnissen zum Teil nur mutmassungsweise oder überhaupt nicht

beantwortet werden können. Diese Fragen scheinen indessen für ein weiteres experimentelles Studium gut zugänglich zu sein, und wir hoffen durch fortgesetzte Experimentalarbeit eine grössere Klarheit über den hier vorliegenden Mechanismus schaffen zu können.

Zu einer völlig unhypothetischen Aussage von praktischer Bedeutung geben unsere Versuche indessen jetzt schon Anlass. Bei Wachstumsversuchen mit Mikroorganismen wird ja von vielen Autoren die zeitraubende mikroskopische Zählung häufig durch eine nephelometrische Schnellmethode ersetzt. Nach unseren hier mitgeteilten Beobachtungen ist es ja sofort klar, dass aus derartigen nephelometrischen Bestimmungen nur mit äusserster Vorsicht Schlüsse hinsichtlich der Änderung der Zellzahl gezogen werden dürfen. Wenn die nephelometrische Bestimmungsmethode also leicht zu Trugschlüssen hinsichtlich der Zellzahl führen kann, macht sie, wie das vorliegende Versuchsmaterial zeigt, als alleinige Bestimmungsmethode verwendet, auch leicht, dass vielleicht sehr wichtige Erscheinungen unserer Beobachtung einfach entzogen werden.

In der vorliegenden Arbeit haben wir in Kombinationsversuchen mit Amylalkoholextrakt aus Hefe festgestellt, dass Vitamin B₁ bei gleichbleibender Bakterienzahl einen ausgeprägten, fördernden Einfluss auf die Grösse der einzelnen Bakterienzelle ausübt. Andererseits haben wir in unseren früheren Kombinationsversuchen mit dem ätherlöslichen Zuwachsfaktor festgestellt, dass dort eine Zugabe von Vitamin B₁ notwendig ist, um eine nennenswerte Vermehrung der Bakterienzellen zu erreichen. Wie lassen sich nun diese zwei Tatsachen vereinigen? Unser Versuchsmaterial reicht hier zu einer Erklärung nicht aus. In Fortsetzung unserer Arbeit wollen wir aber von der folgenden Vorstellung ausgehen. Der Amylalkoholextrakt bewirkt allein eine ziemlich kräftige Vermehrung der Bakterienzellen. Es wäre demnach eine natürliche Annahme, dass dieser Extrakt sowohl den ätherlöslichen Zuwachsfaktor enthält als auch Vitamin B₁ in genügender Menge für die Vermehrung der Bakterien. Eine weitere Zugabe von Vitamin B₁

wäre dann gleichbedeutend mit einer Überdosierung von Vitamin, und als Folge dieser Überdosierung entwickeln sich die grossen Bakterienformen. Gewissermassen wird eine derartige Auffassung schon durch das vorliegende Versuchsmaterial gestützt. Einmal treten ja nämlich schon durch Überschuss von Amylalkoholextrakt allein grosse Bakterienformen auf, die nunmehr nicht weiter durch gleichzeitige Vitaminzugabe beeinflusst werden. Dazu wissen wir noch, dass bei unreinen Ätherextrakten aus Hefe, die an sich wachstumsfördernd wirken, eine gleichzeitige Zugabe von Vitamin B₁ grosse Bakterienformen hervorruft. Der entscheidende Versuch wird hier die Kombination von dem reinen, an sich unwirksamen, ätherlöslichen Zuwachsfaktor und Vitamin B₁ liefern, wo die Vitaminkonzentration innerhalb weiter Grenzen stufenweise variiert wird. Mit der Darstellung des reinen ätherlöslichen Zuwachsfaktors sind wir beschäftigt.

Noch eine Erscheinung muss hier kurz besprochen werden. Bei Zugabe von Vitamin B₁ wie auch bei Überschuss von Amylalkoholextrakt treten, wie früher erwähnt, verzweigte Formen von *B. radiculicola* auf, die stark an Bakteroiden erinnern. Ob hier wirklich echte Bakteroiden vorliegen, muss eine weitere sorgfältige Prüfung entscheiden. Sollte es sich herausstellen, dass dies wirklich der Fall ist, bleibt zu untersuchen, inwieweit diese Ausbildung von Bakteroiden, die also durch besondere Konzentrationsverhältnisse der Zuwachsfaktoren zustandekommt, für die in den Knöllchen der Hülsenpflanzen natürlich vorkommende Bakteroidenbildung von Bedeutung ist.

Es fragt sich schliesslich, ob die hier beobachtete Wirkung von Vitamin B₁ spezifisch auf *B. radiculicola* beschränkt ist, oder ob es sich vielleicht um eine Erscheinung von einer allgemeineren zellenphysiologischen Bedeutung handelt.

Für freigebige materielle Unterstützung sind wir der Stiftung »Wenner-Grenska Samfundet« zu grösstem Dank verpflichtet.

Sammanfattning.

Ett amylalkoholextrakt av jäst, som sättes till det vanliga syntetiska substratet enligt Allison, förmår framkalla en tämligen kraftig tillväxt av *B. radiculicola* (*Trif. pratense*). Denna tillväxt kan emellertid knappast betecknas som fullt »normal». Vid optimal koncentration av amylalkoholextrakt avstannar den nämligen vid ett bakterietal av ungefär 600 millioner per ml, medan ju, som vi veta, en tillsats av ett vanligt jäst- eller halmextrakt förmår framkalla en tillväxt av ända upp till 2 000 millioner bakterier per ml. Vid överskott av amylalkoholextrakt uppträda stora bakterieformer, vilka delvis erinra om bakteroider. Kvoten mellan den med Pulfrichfotometer bestämda extinktionskoefficienten och bakterietalet ändrar sig i de olika proven på ett sätt, som motsvarar den mikroskopiskt iakttagna storleken av bakterierna.

Om samtidigt med amylalkoholextrakt vitamin B_1 tillsättes, har detta i intet av de här studerade fallen någon inverkan på bakterietalet. Däremot har vitamintillsatsen en utpräglad inverkan på bakteriesuspensionernas grumlighetsgrad. Särskilt tydligt kommer denna verkan av vitaminet till synes i proven med laga koncentrationer av amylalkoholextrakt. Efter vitamintillsatsen stiger här vid oförändrat bakterietal extinktionskoefficienten till det fördubbla värdet. Vid successivt stegrade tillsatser av amylalkoholextrakt gör sig denna inverkan av vitaminet i motsvarande mindre grad gällande; vid överskott av amylalkoholextrakt låter sig slutligen någon verkan av vitamintillsatsen icke längre påvisas. Kvoten extinktionskoefficient/bakterietal ändrar sig också här någorlunda proportionellt med den mikroskopiskt iakttagna bakteriestorleken. Stora, förgrenade former, vilka erinra om bakteroider, uppträda i proven med vitamintillsats redan vid låg koncentration av amylalkoholextrakt. Det är slutligen anmärkningsvärt, att även utan tillsats av amylalkoholextrakt en tillsats av vitamin B_1 framkallar stora om än icke förgrenade bakterieformer.

Denna egendomliga verkan av vitamin B_1 på tillväxten av

B. radiclecola, som här just har beskrivits, ger upphov till en mängd frågor, som vi på grundval av våra nuvarande erfarenheter endast gissningsvis eller icke alls kunna besvara. Dessa frågor förefalla emellertid att vara väl tillgängliga för vidare experimentella studier, och vi hoppas att genom fortsatt experimentalarbete kunna komma till större klarhet över den mekanism, som här föreligger.

Redan nu kunna emellertid våra försök ge ett fullkomligt hypotesfritt svar på en fråga av praktisk betydelse. Vid tillväxtförsök på mikroorganismer ersättes ju av många författare ofta den tidsödande mikroskopiska räkningen med en nefelometrisk snabbmetod. Av våra här meddelade iakttagelser framgår det likväl tydligt, att man endast med yttersta försiktighet kan dra några slutsatser av dylika nefelometriska bestämningar med avseende på ändringen i celltal. Om alltså den nefelometriska bestämningsmetoden lätt ger upphov till felaktiga slutsatser beträffande celltalet, kan den, som ju det föreliggande försöksmaterialet visar, om den omvändes som ensam bestämningsmetod, också lätt leda till att kanske mycket viktiga företeelser helt enkelt undslippa vår iakttagelse.

I föreliggande arbete ha vi i kombinationsförsök med amylalkoholextrakt av jäst fastställt, att vitamin B_1 utan att påverka bakterietalet utövar en utpräglad, befordrande inverkan på storleken av de enskilda bakteriecellerna. Å andra sidan ha vi i våra tidigare kombinationsförsök med den eterlösliga tillväxtfaktorn funnit, att en tillsats av vitamin B_1 är nödvändig, om någon nämnvärd cellökning där skall äga rum. Hur låta sig nu dessa två fakta förenas? Vårt försöksmaterial räcker här inte till för en förklaring. I fortsättningen av vårt arbete vilja vi emellertid utgå från följande föreställning. Amylalkoholextraktet förmår att ensamt framkalla en tämligen kraftig ökning av antalet bakterieceller. Det vore därför naturligt att anta, att detta extrakt innehåller såväl den eterlösliga tillväxtfaktorn som vitamin B_1 i tillräcklig mängd för bakteriernas förökning. En ytterligare tillsats av vitamin B_1 skulle då betyda en överdosering av vitamin och som en följd

av denna överdosering utvecklas de stora bakterieformerna. I viss mån stödes en dylik uppfattning redan av det föreliggande försöksmaterialet. Dels uppträda ju nämligen redan genom överskott av amylalkoholextrakt ensamt stora bakterieformer, vilka nu inte längre påverkas av en samtidig vitamin-tillsats. Dels veta vi dessutom, att vid rena eterextrakt av jäst, vilka i och för sig verka tillväxtbefordrande, en samtidig tillsats av vitamin B_1 framkallar stora bakterieformer. Det avgörande försöket kommer här att utgöras av ett kombinationsförsök med den rena, i sig overksamma, eterlösliga tillväxtfaktorn och vitamin B_1 , där vitaminkoncentrationen gradvis varieras inom vida gränser. Vi äro för närvarande sysselsatta med framställningen av den rena, eterlösliga tillväxtfaktorn.

Ytterligare en företeelse måste här i korthet beröras. Vid tillsats av vitamin B_1 liksom också vid överskott av amylalkoholextrakt uppträda, som tidigare omnämnts, förgrenade former av *B. radialis*, vilka starkt påminna om bakteroider. En fortsatt grundlig undersökning får avgöra, om det här verkligen är fråga om äkta bakteroider. Om det skulle visa sig, att detta verkligen är fallet, återstår att undersöka, i vad mån orsaken till denna utbildning av bakteroider, som alltså här kommer till stånd på grund av särskilda koncentrationsförhållanden beträffande tillväxtfaktorerna, har betydelse för den i haljväxternas rotknölar naturligen förekommande bakteroidbildningen.

Man frågar sig slutligen, om den här iakttagna verkan av vitamin B_1 är specifikt bunden till *B. radialis*, eller om det möjligen rör sig om en företeelse av en mera allmän cellfysiologisk betydelse.

Literaturverzeichnis.

- NILSSON, R., BJÄLFVE, G. & BURSTRÖM, DAGMAR, 1938. Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radialis*. II. — Lantbrukshögskolans annaler, Vol. 6 S. 299—326.

The Electro-Chemistry of Soil Formation: III. The Humate Complex.

By KAZIMIERZ BORATYŃSKI¹ and SANTE MATTSON.

From the Institute of Pedology.

In his original work on the amphoteric humates of Al and Fe MATTSON (1931) studied the isoelectric precipitation of purified humic acids by the chlorides of Al and Fe. The non-acidoid colloids (»humin» or »Humuskohle») were salted out from the Na-humate extract of the peat by n. 4 NaCl and the soluble organic matter was removed by washing the HCl precipitated acidoids according to the method of ODÉN (1922). Our present work deals with the study of the humate complex present in the untreated material of the various horizons of the previously described Haggbygget podzol. Since the earlier investigations have not been discussed in this series we shall first briefly review this work.

Tables 13 and 14 show the different systems studied and fig. 33 expresses graphically their electrokinetic behavior.

Taking the systems in the order given in the tables we note the following:

System 51. This system contains $6 \times 0.350 = 2.1$ grams humus per millimol Al_2O_3 ($= 0.102$ g.). There is here no I.E.P. (isoelectric point), the colloid remaining negative down to the lowest pH. This is because the humus acidoid, even after complete suppression of its dissociation, has a residual negative charge common to all chemically indifferent colloids in aqueous media, and the quantity of alumina is not large enough to

¹ This author is the recipient of a scholarship from the University of Poznań, Polen.

neutralize this charge even at a pH about 4.2 to 4.1 where its electropositive activity, as a basoid, is a maximum (cf. fig. 33). At lower pH the alumina is rapidly ionized into single cations which pass into solution, thus reducing the basoid content of the complex. A corresponding accumulation of humus in nature must, if the pH is low enough, lead to the

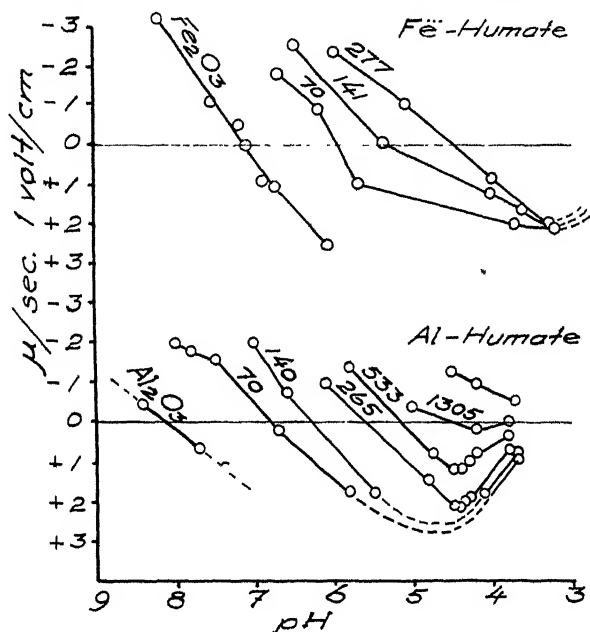


Fig. 33. The relation between the I.E.P. and the composition of aluminum and ferric humates. (The figures on the curves give the number of grams of humus per mol M_2O_3 .)

formation of a humus podzol, i. e., the eluviation of sesquioxides and the accumulation of humus. The Al ions do not here bring about any cationic solvation of the humus because the gel complex remains electronegative, the Al ions dissociating from the complex only to the extent that the latter undergoes complete hydrolysis (displacement of Al by H).

System 52. This system has two I.E.P.'s, one at pH 4.5 (interpolated) and one at pH 3.8. We explain this as follows:

Table 13.

*Al-humates.*System 51. A: 3 m.e. AlCl_3 in 1000 cc.B: 3 " Na-humate in 1000 cc.¹

Solution A 20 cc + HCl m.e. ²	Solution B 20 cc + NaOH m.e. ²	Flocculation:		Cataphor.: μ sec. 1 volt cm	pH
		after mixing	over night ³		
0.0	0.0	slow	xx	—	—
0.005	0.0	instant	xxxx	-1.3	4.5
0.01	0.0	"	xxxx	-1.0	4.2
0.03	0.0	"	xxxx	-0.5	3.7
0.05	0.0	"	xxxx	—	—
0.10	0.0	rapid	xxxx	-0.5	—
0.15	0.0	"	xxxx	—	—
0.30	0.0	"	xxxx	-0.2	—

System 52. A: 6 m.e. AlCl_3 in 1000 cc.

B: 3 " Na-humate in 1000 cc.

0.0	0.075	0	0	—	—
0.0	0.065	0	x	—	—
0.0	0.060	rapid	xxx	-1.9	—
0.0	0.050	instant	xxxx	-0.4	5.0
0.0	0.025	"	xxxx	+0.2	4.2
0.0	0.0	"	xxxx	±0.0	3.8
0.05	0.0	rapid	xxxx	-0.1	—
0.15	0.0	"	xxxx	—	—
0.30	0.0	"	xxxx	-0.2	—

¹ 1 m.e. = 0.350 g. organic matter.² Plus enough water to make a total volume of 50 cc.³ One x = partial, four x's = complete flocculation.

Table 13 (cont.).

System 53. A: 12 m.e. AlCl_3 in 1000 cc.

B: 3 » Na-humate in 1000 cc.

Solution A 20 cc+HCl m.e.	Solution B 20 cc+NaOH m.e.	Flocculation:		Cataphor.: $\mu/\text{sec. 1 volt/cm}$	pH
		after mixing	over night		
0.0	0.19	0	x	—	—
0.0	0.18	rapid	xxxx	-1.4	5.8
0.0	0.16	instant	xxxx	+0.8	4.75
0.0	0.14	"	xxxx	+1.2	4.5
0.0	0.12	"	xxxx	+1.2	4.4
0.0	0.10	"	xxxx	+1.0	4.3
0.0	0.05	"	xxxx	+0.8	4.2
0.0	0.0	"	xxxx	+0.3	3.8

System 54. A: 24 m.e. AlCl_3 in 1000 cc.

B: 3 » Na-humate in 1000 cc.

0.0	0.44	0	x	—	—
0.0	0.42	rapid	xxx	-1.9	—
0.0	0.40	instant	xxxx	-1.0	6.1
0.0	0.38	"	xxxx	+1.1	4.8
0.0	0.36	"	xxxx	+2.2	4.5
0.0	0.34	"	xxx	+2.2	4.1
0.0	0.32	"	xxx	+2.0	4.35
0.0	0.20	"	xxxx	+1.9	4.3
0.0	0.0	"	xxxx	+0.6	3.8

System 56. A: 30 m.e. AlCl_3 in 1000 cc.

B: 2 » Na-humate in 1000 cc.

0.0	0.58	0	x	—	—
0.0	0.56	slow	xxx	-2.0	7.0
0.0	0.54	instant	xxxx	-0.8	6.6
0.0	0.52	"	xxxx	+1.8	5.5
0.0	0.50	"	xxx	+1.9	—
0.0	0.48	rapid	xx	+2.0	—
0.0	0.46	0	x	—	—
0.0	0.44	0	x	—	—
0.0	0.40	0	x	—	—
0.0	0.30	0	x	—	—
0.0	0.20	rapid	xx	+2.2	—
0.0	0.10	instant	xxx	+1.9	4.1
0.0	0.0	"	xxxx	+0.8	3.7

Table 13 (cont.).

System 58. A: 30 m.e. AlCl_3 in 1000 cc.

B: 1 " Na-humate in 1000 cc.

Solution A 20 cc+HCl m.e.	Solution B 20 cc+NaOH m.e.	Flocculation:		Cataphor.: $\mu/\text{sec. 1 volt/cm}$	pH
		after mixing	over night		
0.0	0.60	slow	xxx	-2.0	8.0
0.0	0.59	rapid	xxxx	-1.8	7.8
0.0	0.58	instant	xxxx	-1.6	7.5
0.0	0.57	"	xxxx	-1.2	7.0
0.0	0.56	"	xxxx	+0.2	6.7
0.0	0.54	slow	xxxx	+1.8	5.8
0.0	0.52	0	x	—	—
0.0	0.45	0	0	—	—
0.0	0.30	0	0	—	—
0.0	0.15	0	0	—	—
0.0	0.0	rapid	xxxx	+0.9	3.7

Table 14.

*Fe-humates.*System 55. A: 24 m.e. FeCl_3 in 1000 cc.

B: 3 " Na-humate in 1000 cc.

Solution A 20 cc+HCl m.e.	Solution B 20 cc+NaOH m.e.	Flocculation:		Cataphor.: $\mu/\text{sec. 1 volt/cm}$	pH
		after mixing	over night		
0.0	0.44	0	x	—	—
0.0	0.42	rapid	xxx	-2.3	6.0
0.0	0.40	instant	xxxx	-1.0	5.1
0.0	0.38	"	xxxx	+0.9	4.0
0.0	0.36	"	xxxx	—	3.5
0.0	0.34	"	xxxx	+2.0	3.3
0.0	0.30	rapid	xxxx	—	—
0.0	0.20	slow	xxxx	+1.9	—
0.0	0.10	"	xxxx	—	—
0.0	0.0	rapid	xxx	+1.6	—

Table 14 (cont.).

System 57. A: 30 m.e. FeCl_3 in 1000 cc.

B: 2 " Na-humate in 1000 cc.

Solution A 20 cc + HCl m.e.	Solution B 20 cc + NaOH m.e.	Flocculation		Cataphor.: $\mu/\text{sec. 1 volt/cm}$	pH
		after mixing	over night		
0.0	0.58	slow	x	—	—
0.0	0.56	instant	xxxx	-2.5	6.5
0.0	0.54	"	xxxx	± 0.0	5.4
0.0	0.52	"	xxxx	+1.3	4.0
0.0	0.50	"	xxxx	+1.7	3.6
0.0	0.48	rapid	xxxx	+2.0	3.3
0.0	0.46	slow	xxxx	+2.2	3.2
0.0	0.40	0	xxxx	+2.2	—
0.0	0.30	0	xxxx	+1.9	—
0.0	0.20	0	xxxx	+1.9	—
0.0	0.10	0	xxxx	+1.7	—
0.0	0.0	slow	xxx	+1.6	—

System 59. A: 30 m.e. FeCl_3 in 1000 cc.

B: 1 " Na-humate in 1000 cc.

0.0	0.60	slow	xx	—	—
0.0	0.58	instant	xxxx	-1.8	6.7
0.0	0.57	"	xxxx	-0.9	6.2
0.0	0.56	"	xxxx	+1.0	5.7
0.0	0.54	rapid	xxxx	—	4.1
0.0	0.52	slow	xxxx	+2.0	3.7
0.0	0.30	0	0	—	—
0.0	0.0	0	0	—	—
0.0	0.0	0	0	—	—
0.0	0.0	slow	xxx	+1.3	—
0.0	0.0	rapid	xxxx	+1.1	—

The negative charge of the acidoid is balanced at pH 4.5 by the partial ionization of the basoid group (in this case alumina). Below this point the positive charge on the complex is in excess but only within a short range because the increased ionization of the alumina causes Al ions to split off from the complex. The basoid group becomes thereby quantitatively weakened although its activity is increased. As the loss must ultimately outweigh the increase in activity the complex must once more become isoelectric and electronegative at a lower pH. The amount of Al in solution was much greater at the lower than at the higher I.E.P. but there was no cationic solvation of humus at any pH, the positive charge being too weak. The Al ions split off from the complex completely dissociated from the humus. Under leaching conditions in nature and at a sufficiently low pH this system would, therefore, like the previous, lead to the formation of a humus podzol.

System 53. I.E.P. = 5.15. The positive charge attains here a higher value but decreases, as before, tending again to a second I.E.P.

System 54. I.E.P. = 5.5. The positive charge attains here a high value and there is some tendency toward a cationic solvation of humus. A sol of this type would, however, not wander very deep in a podzol profile. Because of its relatively low I.E.P. and because of its low degree of stability, even at the point of maximum positive charge, this sol would flocculate in the upper part of the horizon of sesquioxide accumulation (upper B). This system might be looked upon as representing a transition between the humus podzol and the »iron-humus» podzol.

System 56. I.E.P. = 6.2. The positive charge assumes here a critical value resulting in an extensive cationic solvation at moderately low pH (between 4 and 5). In the podzol profile this system would lead to the accumulation of Al-humate in the B horizon where the sol, because of a higher pH, would flocculate.

System 58. I.E.P. = 6.8. The cationic solvation of the humus is here complete and the sol is stable at moderately

low pH. This sol, which is poorer in humus than that of the previous system, would require a higher pH to flocculate isoelectrically and would, therefore, normally wander deeper down in the same profile. This system, and others, containing still less humus may be assumed to represent the conditions prevailing in the drier "iron" podzols.

System 55. I.E.P. = 4.55. This ferric-humate system corresponds to the Al-humate system 54 with respect to the composition. The I.E.P. is about one pH unit lower in the ferric system, a difference quite generally observed.

System 57. I.E.P. = 5.4. As in the corresponding Al-humate system 56 there is here a strong tendency to a cationic solvation of the humus but at a much lower pH, and then the sol is less stable for it is completely flocculated over night.

System 59. I.E.P. = 5.95. The cationic solvation is here complete at low pH (cf. Al-humate system 58). It is obvious that the accumulation of ferric-humates in the podzol profile must take place at a higher level in the B horizon than that of the Al-humates since the former have lower I.E.P.s and require therefore a lower pH for their isoelectric precipitation as well as for their cationic solvation. The movement of iron in the soil is, however, complicated by the presence of both ferric and ferrous iron whose colloidal compounds show different electrokinetic behavior.

If we take system 52 to represent the maximum quantity of humic acidoids which can be electrically neutralized by alumina and if we take system 56 to represent the maximum quantity of the humic acidoids which can be cationically solvated by the alumina we get (from the composition of the precipitates obtained at the corresponding I.E.P.s, i.e., at pH 4.5 and 6.2) the following ratios:

	G. humus: M. mol Al_2O_3	G. humus: G. Al_2O_3
Maximum amount of humus:		
(a) isoelectrically precipitated	1.805 : 1	12.8 : 1
(b) cationically dispersed by Al	0.140 : 1	1.4 : 1

These ratios apply to the humic acidoids as distinguished from the chemically more heterogenous »crude» humus or peat from which the acidoids were extracted. We might expect the acidoid fraction to be more active and require more alumina for its electrical neutralization and cationic dispersion than the »crude» humus. Since the equivalent weight of the humic acidoids may differ considerably, as we shall see later, the above ratios must not be taken as representative but are merely computed for comparison with other data. The figures are also of interest in connection with a recent criticism of the work of MATTSON & NILSSON (1935) and of MATTSON & GUSTAFSSON (1937) by RODE¹ (1938) who claims that the proportion of organic matter to sesquioxides is much greater in

¹ This otherwise expert and valuable criticism contains an error which we wish to correct. Professor RODE (table 1¹) is unable to explain the fact that the amount of NaOH required to neutralize the extracts (MATTSON & NILSSON table 1¹) decreased with a decrease in pH and considers therefore the results erroneous. The data are, however, quite correct and reproducible. The answer to the anomaly is found in the amounts of Al in solution. Where no humus was added, much Al was dissolved, the pH was elevated but the buffer capacity and titration value remained large. Where humus are added there was less Al, and with some of the acid neutralized by the Ca of the humus there was less to titrate although the pH was lower.

Why did less Al dissolve in the more acid extracts containing humus? We say: because the humus protects the Al, the humates, like the phosphates and silicates, being less soluble than the hydroxide. Professor RODE says: because the *initial* pH of the mixture containing humus was higher due to the instantaneous formation of CaCl_2 . In this he might be partially right. We wish to point out, however, that at the same pH, other things being equal, there will always be more Al dissolved in the presence of a neutral chloride. Yet in our experiment the CaCl_2 produced no such effect although this salt was formed in the most acid extracts. But this and other questions brought up by professor RODE can only be satisfactorily settled by experimental evidence. We hope that some laboratory lysimeter experiment which we are now conducting shall contribute to the solution of some of these questions.

It should be added that in the work of MATTSON & GUSTAFSSON the same anomaly between titration and pH was observed throughout the work, but the titration values at pH 7 were omitted in this paper since they have no bearing on the problem investigated.

the soil solution than in the amphoteric humates and that there can therefore be no cationic solvation in the soil. This question is obviously of very great importance and we are glad that this problem is being critically attacked by so competent an authority. In trying to answer this question on the basis of published data it must be remembered that what we want to know is the ratio of humic acidoids (not organic matter) to sesquioxides immediately below the zone of sesquioxide eluviation. If these conditions were fulfilled for the ratios reported by Rode then we should, according to the theory, be dealing with humus podzols.

Another point of interest in connection with tables 13 and 14 but which is better brought out in fig. 33 is the pH at which alumina and ferric oxide show a maximum in their activity as basoids as measured by their positive charge. For alumina this pH is at about 4.4 whereas for ferric oxide it occurs at a pH unit or more lower down.

In table 15 are shown (1) the composition of the isoelectrically precipitated humates, (2) the I.E.P.s, (3) the cation exchange capacity as determined by the Ba-acetate treatment, (4) exchangeable Ba calculated on the basis of free humus acidoid, (5) the loss in exchange capacity due to combination with Al and Fe, (6) the number of exchange equivalents of humus acidoid in combination with one mol M_2O_3 and (7) the percentage of free humus acidoid or the »acidoid residue» in the amphoteric humates.

The figures in the last three columns are based on the assumption that the loss in exchange capacity is due to a combination with Al or Fe. This might be questioned by some soil students who do not accept the chemical interpretation. It is of course possible that a change in structure has caused a change in the capacity to bind base. It is also possible that a combination with Al and Fe has increased the strength of the humus acidoid by causing H ions to dissociate below pH 7.0 which, in the free acidoid, do not dissociate. This would be identical to the apparent activation of phosphoric

and silicic acid when in combination with Al and Fe (MATTSON & KARLSSON 1938). If this is the case then the figures expressing the degree of combination with Al and Fe are too low. It must be pointed out that the calculated combination with Al and Fe refers to pH 7. At lower pH down to the

Table 15.

The cation exchange capacity (Ba at pH 7.0) of the humus acidoid and of the amphoteric humates of Al and Fe⁺⁺⁺.

System number	Composition. G. humus acidoid I.E.P. M. mol M_2O_3	Percent humus (105° dry basis)	Exchangeable Ba m.e./g. (b)	Exch. Ba calc. on basis of free humus m.e./g. (a)	Exch. m.e. humus in combination with Al or Fe (a-b)	Exch. equiv. humus in combination with 1 mol M_2O_3	Percent free humic residue $\left(\frac{b \times 100}{a}\right)$
0	Free humus . . .	—	100	2.86	2.86	—	100
52	$Al_2O_3 \cdot (Hum)_{1.305}$	4.5	91.6	1.83	2.62	.79	70.0
53	$Al_2O_3 \cdot (Hum)_{0.513}$	5.15	81.7	1.06	2.33	1.27	45.4
54	$Al_2O_3 \cdot (Hum)_{0.265}$	5.5	68.9	.60	1.97	1.37	30.5
56	$Al_2O_3 \cdot (Hum)_{0.140}$	6.2	53.9	.41	1.54	1.13	26.7
58	$Al_2O_3 \cdot (Hum)_{0.070}$	6.8	36.8	.33	1.05	.72	31.6
55	$Fe_2O_3 \cdot (Hum)_{0.277}$	4.55	60.5	1.33	1.73	.40	77.0
57	$Fe_2O_3 \cdot (Hum)_{0.141}$	5.4	43.8	.85	1.25	.40	67.8
59	$Fe_2O_3 \cdot (Hum)_{0.070}$	5.95	27.9	.55	.80	.25	69.2

I.E.P. the degree of combination must increase and the acidoid residue correspondingly decrease.

It will be seen that the ferric humates exchange more cations (at pH 7) than do the Al-humates of corresponding composition, exactly as in the case of the phosphates and silicates. This we ascribe to the lower I.E.P.s of the ferric humates. They are, therefore, more extensively hydrolysed at pH 7 and possess a greater acidoid residue at this point.

The podzol humates.

The podzol profile is more differentiated and possesses a greater number of characteristic horizons than any other soil type within the temperate zone. We decided therefore to begin our study of the humate complex in the soil by studying the podzol humates and selected the previously described Häggbygget podzol (MATTSON & GUSTAFSSON 1937, and MATTSON & HOU 1937). Most of the samples used in this work were either prepared and sifted separately or they were collected later (1936) than the samples used in previous work and are therefore not comparable to the latter.

We designate the samples as follows:

F₀ = Ground vegetation mostly vaccinium.

F₁ = Surface layer of leaves, needles and twigs. 0—1 cm.

F₂ = Loose layer of partly transformed litter. 2—4 cm.

H = Compact dark layer, macroscopically structureless humus. 5—12 cm.

A₁ = Black, compact and fine grained humus incorporated with the bleached mineral soil. 13—15 cm.

A₂ = Bleached layer. 16—27 cm.

B₁ = Coffee brown layer. 28—37 cm.

B₂ = Bright rusty layer. 38—60 cm.

B₃ = Yellowish brown layer. 61—90 cm.

The soil has developed in a fine sand resting on a compact bottom moraine at about 90 cm. The soil possesses therefore no unaltered parent material or C horizon.

Table 16.

Percentage moisture, loss on ignition, ash content and volume weight of the Häggbygget podzol profile.

Horizon	F ₀	F ₁	F ₂	H	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	B ₃
Water 105° . . .	10.2	10.9	11.5	12.4	6.3	0.2	4.2	2.9	1.4
Loss on ignition .	86.3	86.1	79.8	75.3	44.3	0.99	12.2	8.1	3.7
Ash	3.5	3.0	8.7	12.3	49.5				
Vol. weight g. 1 cc	0.24	0.24	0.24	0.24	0.60	1.36	1.10	1.20	1.28

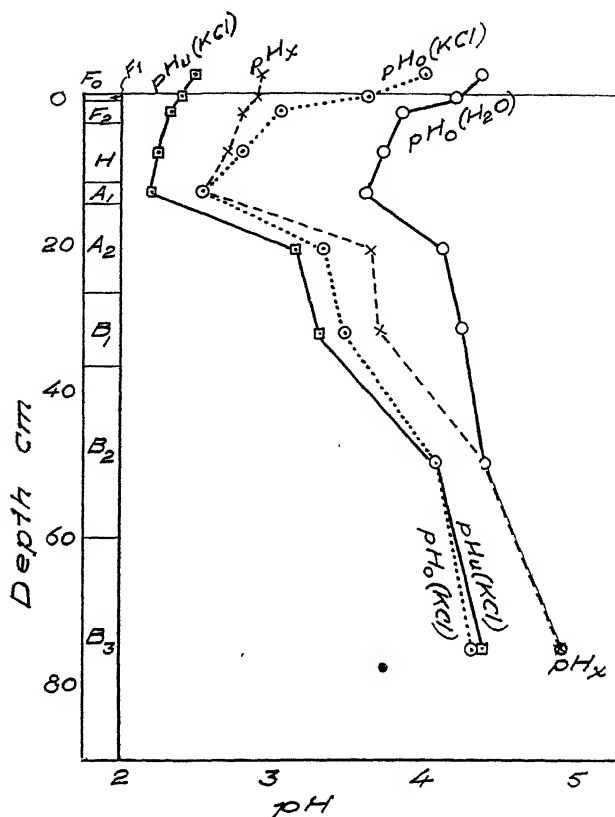


Fig. 34. The pH of the original material (pH_0) in water and in N,1 KCl solution and of the electrodyalysed material (pH_n) in KCl, and the pH of exchange neutrality (pH_x) in the various horizons of the Hägghygget podzol.

Table 16 gives the percentage moisture, the loss on ignition, the ash content and the volume weight of the samples.

The results are characteristic of the podzol profile, especially with respect to the second maximum in organic matter in the B horizons. We shall see later that Fe-humates dominate in B_1 whereas Al-humates dominate in B_3 exactly as we might predict from the electrokinetic behavior of these compounds.

In table 17 are shown: (1) the pH values of the samples in water and in normal KCl solution before (pH_0) and after

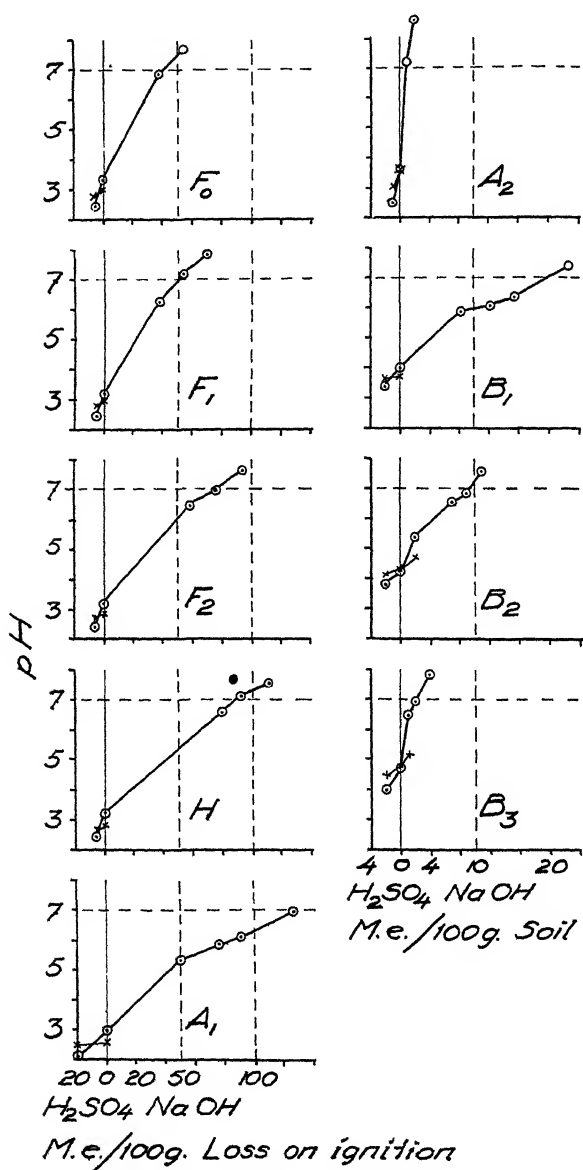


Fig. 35. The titration curves of the electrolysed samples from the Häggbyget podzol.

(pH_n) electrodialysis as determined by the quinhydrone electrode (fig. 34); (2) the pH of exchange neutrality (pH_x), i.e., the pH at which the titration curves intersect when the electrodialysed samples are titrated with H_2SO_4 and NaOH in water on the one hand and in n. 0.5 Na_2SO_4 on the other (fig. 35); (3) the quantities of electrodialyseable acids and bases; (4) the quantities of acidoids, obtained by the electrometric titration (to pH 7.0) of the electrodialysed samples (fig. 35); and (5) the quantities of electrodialyseable organic matter which wandered to the anode and to the cathode chambers as determined by the number of cc n. 0.1 $KMnO_4$ solution required for its oxidation (CROWTHER 1935; the Budapest method).

All quantities of acids, acidoids and bases are expressed in milliequivalents (1) per 100 grams soil, (2) per 100 grams loss on ignition, and (3) per 100 cc soil as calculated from the volume weight.

The titration of the samples (fig. 35) in the presence of n. 0.5 Na_2SO_4 covers only a short range at the acid end of the curves, sufficient to show the point of intersection with the titration curves in water. The latter curves were extended to pH 7 where a sufficient number of determinations were made to get the abscissa value at this point. The value expresses the amount of acidoid active below pH 7 and represents the total capacity to bind base (NaOH) at pH 7.0 ($C_{7.0}$). The intermediate part of the curves (between pH_x and $C_{7.0}$) has been ignored.

The pH. The pH_0 in water and in the KCl solution decreases from F_0 to A_1 , where it attains a minimum, and increases then downward to B_3 where it is highest. In the zone of humus accumulation (F_1 to A_1) the humus acidoid is, therefore, more acidic the greater the age and the degree of transformation. In the zone of amphoteric humate accumulation (B_1 to B_3) the acidity decreases with a decrease in the acidoid/basoid ratio, i.e., with an elevation of the I.E.P.

That it is not primarily the content of exchangeable bases which determines the pH is shown by the pH_n values in nor-

Table 17.

The pH before (pH₀) and after (pH_u) electrodialysis, the point of exchange neutrality (pH_x), the electrodialyseable acids and bases, the capacity of the electrodialysed soil to bind base at pH 7.0 (acidoid C_{7.0}) and the anodically and cathodically dialysing organic matter in the Häggbygget podzol.

Horizon	F ₀	F ₁	F ₂	H	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	B ₃
pH ₀ in water	4.88	4.21	3.85	3.73	3.61	4.12	4.24	4.39	4.89
pH ₀ in n. KCl	4.00	3.62	3.05	2.81	2.58	3.33	3.48	4.10	4.84
pH _u	2.49	2.40	2.32	2.25	2.20	3.14	3.30	4.07	4.38
pH ₀ —pH _u in KCl	1.51	1.22	.73	.56	.33	.19	.18	.08	— .04
pH _x in Na ₂ SO ₄	2.92	2.90	2.80	2.70	2.55	3.63	3.70	4.40	4.90
Acid m.e. 100 g.	31.9	18.8	14.5	13.5	4.8	.68	2.20	1.28	.62
Acidoid (C _{7.0})	41.5	51.1	72.4	79.6	53.8	.93	20.4	9.8	2.22
Acid + acidoid	73.4	69.9	86.9	93.1	58.6	1.58	22.6	11.08	2.84
Base	32.6	23.2	21.4	16.6	5.8	.24	.40	.25	.31
Acid + acidoid—base	40.8	46.7	65.5	76.5	52.8	1.34	22.2	10.83	2.53
Acid m.e. 100 g. L.I. ¹	33.2	19.5	16.1	15.6	10.1				
Acidoid	42.0	52.0	78.0	91.0	130.0				
Acid + acidoid	75.2	71.5	94.1	106.6	140.1				
Base	33.9	24.0	23.8	19.2	12.4				
Acid + acidoid—base	41.3	47.5	70.3	87.4	127.7				
Acid m.e. 100 cm ³	7.7	4.5	3.5	3.2	2.9	.86	2.1	1.5	.80
Acidoid	10.0	12.3	17.4	19.1	32.1	1.27	22.4	11.8	2.8
Acid + acidoid	17.6	16.8	20.9	22.3	35.0	2.13	24.8	13.3	3.6
Base	7.8	5.6	5.1	4.0	3.5	.33	.44	.30	.39
Acid + acidoid—base	9.8	11.2	15.8	18.3	31.5	1.8	24.4	13.0	3.2
C.e.n. 0.1 KMnO ₄ /g. soil:									
Anode solution	62.8	28.5	24.6	21.4	9.0	.99	1.05	.50	.11
Cathode	32.6	11.3	8.5	8.0	1.9	.62	.04	.02	.03
C.e.n. 0.1 KMnO ₄ /g. L.I. ¹ :									
Anode solution	65.3	29.5	27.3	24.9	19.2	100.4	8.3	6.0	3.0
Cathode	33.9	11.8	9.5	9.3	4.0	62.8	.80	.25	.60

¹ L.I. = loss on ignition.

mal KCl and by the pH_x values in Na_2SO_4 . These values are obtained in the electro-dialysed (unsaturated) samples and depend wholly on the strength and quantity of the acidoid and basoid groups in the soil complex. The pH_n and the pH_x are also lowest in A_1 . The pH_x is higher than the pH_n by about 0.5 unit throughout. Since in the same salt solution pH_n differs but slightly from pH_x this difference is due chiefly to the greater displacing power of the SO_4 ion than that of the Cl ion. The difference $\text{pH}_0 - \text{pH}_n$ is greatest in F_0 and decreases steadily down through the profile until it becomes slightly negative in B_3 . This difference is an expression of the degree of base saturation of the original soil.

In view of the small amounts of bases present in the mineral samples (A_2 to B_3) the differences 0.19 and 0.18 for the A_2 and B_1 might seem too large. In this connection we wish to point out that since the process of electro-dialysis is in effect a podzolization of the soil (MATTSON, 1933) we must expect an appreciable lowering of the pH_n by the prolonged electro-dialysis to which the samples were subjected. As far as the humate complex in the B horizon is a product of an isoelectric precipitation of a cationic sol complex it must have arrived there in an acid saturated condition and in that case pH_n ought to be higher than pH_0 as in B_3 and as previously reported by MATTSON & GUSTAFSSON (1934).

In our present work we have omitted the pH_n values in water in preference of the pH_n in normal KCl. We have however included the pH_0 values in water for what these values may be worth, but it does not appear that such determinations can be very reliable especially not when the material consists of an electro-dialysed soil. In this condition all, or practically all, diffusible acids and bases have been removed and there remains nothing but the acidoid whose atmosphere of H ions is supposed to affect the electrode (suspension effect) and so give a measure of the pH within this atmosphere. But the recent work of DU RUIZ (1934) has shown that the difference in P.D. obtained when the latter is measured in the filtrate

Table 17.

The pH before (pH_0) and after (pH_u) electrodialysis, the point of exchange neutrality (pH_x), the electrodialyseable acids and bases, the capacity of the electrodialysed soil to bind base at pH 7.0 (acidoid $\text{C}_{7.0}$) and the anodically and cathodically dialysing organic matter in the Häggbygget podzol.

Horizon	F_0	F_1	F_2	H	Λ_1	Λ_2	B_1	B_2	B_3
pH_0 in water	4.33	4.21	3.85	3.73	3.61	4.12	4.24	4.39	4.89
pH_0 in n. KCl	4.00	3.62	3.05	2.81	2.53	3.33	3.48	4.10	4.84
pH_u " "	2.49	2.40	2.32	2.25	2.20	3.14	3.30	4.07	4.38
$\text{pH}_0 - \text{pH}_u$ in KCl	1.51	1.22	.73	.56	.33	.19	.18	.08	-.04
pH_x in Na_2SO_4	2.92	2.90	2.80	2.70	2.55	3.63	3.70	4.40	4.90
Acid <i>m.e. 100 g.</i>	31.9	18.8	14.5	13.5	4.8	.63	2.20	1.23	.62
Acidoid ($\text{C}_{7.0}$) "	41.5	51.1	72.4	79.6	53.8	.95	20.4	9.8	2.22
Acid + acidoid " "	73.4	69.9	86.9	93.1	58.6	1.58	22.6	11.08	2.84
Base " "	32.6	23.2	21.4	16.6	5.8	.24	.40	.25	.31
Acid + acidoid - base " "	40.8	46.7	65.5	76.5	52.8	1.34	22.2	10.83	2.53
Acid <i>m.e. 100 g. L.I.¹</i>	33.2	19.5	16.1	15.6	10.1				
Acidoid "	42.0	52.0	78.0	91.0	130.0				
Acid + acidoid " "	75.2	71.5	94.1	106.6	140.1				
Base " "	33.9	24.0	23.8	19.2	12.4				
Acid + acidoid - base " "	41.3	47.5	70.3	87.4	127.7				
Acid <i>m.e. 100 cm³</i>	7.7	4.5	3.5	3.2	2.9	.86	2.4	1.5	.80
Acidoid "	10.0	12.3	17.4	19.1	32.1	1.27	22.4	11.3	2.8
Acid + acidoid " "	17.6	16.8	20.9	22.3	35.0	2.13	24.8	13.3	3.6
Base " "	7.8	5.6	5.1	4.0	3.5	.33	.44	.30	.39
Acid + acidoid - base " "	9.8	11.2	15.8	18.3	31.5	1.8	24.4	13.0	3.2
C.e.n. 0.1 $\text{KMnO}_4/\text{g. soil}$:									
Anode solution	62.8	28.5	24.6	21.4	9.0	.99	1.05	.50	.11
Cathode "	32.6	11.3	8.5	8.0	1.9	.62	.04	.02	.03
C.e.n. 0.1 $\text{KMnO}_4/\text{g. L.I.1}$:									
Anode solution	65.3	29.5	27.3	24.9	19.2	100.4	8.3	6.0	3.0
Cathode	33.9	11.8	9.5	9.3	4.0	62.8	.80	.25	.60

¹ L.I. = loss on ignition.

mal KCl and by the pH_x values in Na_2SO_4 . These values are obtained in the electro dialysed (unsaturated) samples and depend wholly on the strenght and quantity of the acidoid and basoid groups in the soil complex. The pH_n and the pH_x are also lowest in A_1 . The pH_x is higher than the pH_n by about 0.5 unit throughout. Since in the same salt solution pH_n differs but slightly from pH_x this difference is due chiefly to the greater displacing power of the SO_4 ion than that of the Cl ion. The difference $pH_0 - pH_n$ is greatest in F_0 and decreases steadily down through the profile until it becomes slightly negative in B_3 . This difference is an expression of the degree of base saturation of the original soil.

In view of the small amounts of bases present in the mineral samples (A_2 to B_3) the differences 0.19 and 0.18 for the A_2 and B_1 might seem too large. In this connection we wish to point out that since the process of electro dialysis is in effect a podzolization of the soil (MATTSON, 1933) we must expect an appreciable lowering of the pH_n by the prolonged electro dialysis to which the samples were subjected. As far as the humate complex in the B horizon is a product of an isoelectric precipitation of a cationic sol complex it must have arrived there in an acid saturated condition and in that case pH_n ought to be higher than pH_0 as in B_3 and as previously reported by MATTSON & GUSTAFSSON (1934).

In our present work we have omitted the pH_n values in water in preference of the pH_n in normal KCl. We have however included the pH_0 values in water for what these values may be worth, but it does not appear that such determinations can be very reliable especially not when the material consists of an electro dialysed soil. In this condition all, or practically all, diffusible acids and bases have been removed and there remains nothing but the acidoid whose atmosphere of H ions is supposed to affect the electrode (suspension effect) and so give a measure of the pH within this atmosphere. But the recent work of DU RUIETZ (1934) has shown that the difference in P.D. obtained when the latter is measured in the filtrate

of an acidoid on the one hand and in the suspension on the other originates at the point of contact between the KCl-agar bridge and the acidoid and not at the point of contact between the electrode and acidoid, and is due to a Donnan potential. By using a suspension of the soil in normal KCl solution the Donnan potential is almost completely suppressed and the acidity of the acidoid is largely rendered diffusible by exchange. We have therefore decided to make all our pH_n determinations in a normal KCl solution. (When the pH is determined in a suspension in pure water Du Rietz recommends placing the agar bridge in the filtrate and the quinhydrone electrode in the suspension, the latter being separated from the filtrate by a coarse glass filter. The »coarse» filter is, however, badly suited for soils.)

The acids. These consist of mineral and organic acids. There is a maximum of acids in F_0 , a minimum in A_2 and another, but much lower maximum in B_1 (cf. fig. 36). There are less acids than bases in F_0 to A_1 whereas the reverse is true of the mineral horizons A_2 to B_3 . Some of the acids in the latter horizons exist in the exchangeable condition, i.e., in saloid combination with the basoid group of the complex. (To avoid erroneous conclusions it should again be pointed out that some of the acids are weak acids which do not bind any base at the pH of the soil but do so at pH 7. The pH_n can therefore be lower than pH_0 although more acid than base has been removed by electrodialysis.)

The acidoids. These increase from F_0 to H on the basis of 100 grams soil and from F_0 to A_1 on the basis of 100 cc soil and on the basis of the loss on ignition. There is a minimum of acidoids in A_2 and a second maximum in B_1 which, on the basis of 100 cc soil, becomes relatively much larger, exceeding the acidoid content per 100 cc in A_0 ($= F_0, F_1, F_2$ and H) (cf. fig. 36). Since a large proportion of the acidoids in the mineral horizon consists of the silicate and other inorganic

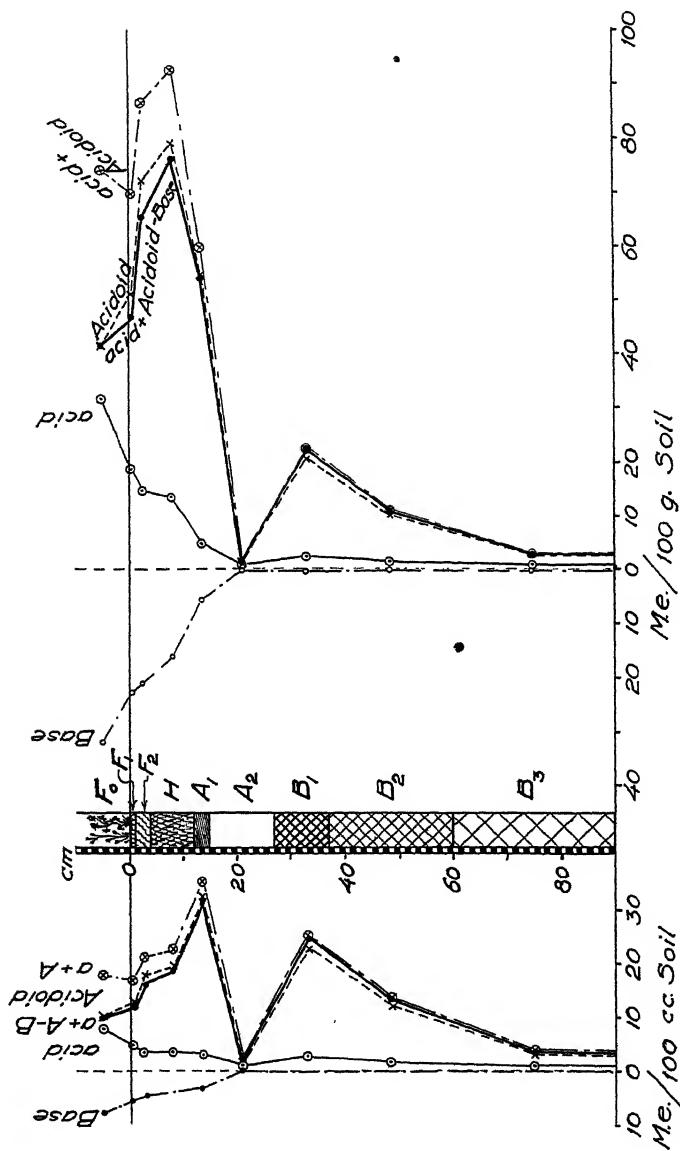


Fig. 36. The electrolyseable acid and base and the quantity of acidoids present in 100 grams (right) and in 100 cc (left) of soil material in the different horizons of the Hägglygget podzol, (cf. table 17).

groups we are not here permitted to make a comparison on the basis of loss on ignition.

It is evident that the acidoid character of the organic colloids increases with age and degree of transformation. This means, in other words, that the equivalent weight of the acidoids is lower the older and the more transformed the humus. We shall later show evidence which point to a still lower equivalent weight in the B horizons. But the acidoid property is not a property of the humus alone but of the living vegetation (F_0) as well which possesses over 80 percent of the acidoid content in the fresh litter (F_1).

The bases. The bases are practically all found in the layer of humus accumulation A_0 (and A_1), the samples from the A_2 and B horizons yielding mere traces of electro-dialyseable bases. There is a maximum of bases in F_0 from which there is a steady decrease down to the mineral soil. There is an excess of bases over acids down to A_2 where the relationship is reversed.

The apparent paradox that practically all of the bases are found in the most acidic humus horizon whereas the less acidic B horizons contain as good as no bases is explained by the ability of the free humus acidoid to bind base at very low pH whereas the amphoteric humates in the B horizon have much higher I.E.P.s below which they bind little or no base. The accumulation of humus makes the soil more acid but it increases its power to retain bases. Thus a podzol possesses a considerable store of bases in its humus horizon whereas a laterite, with its high I.E.P., is completely leached.

Those who still consider the accumulation of Al and Fe in the B horizon as a result of the coagulation of a »humus protected» negative sol (or complex anions) by the higher concentration of cations which, because of the higher pH, they have assumed to exist in the B horizon, should study the facts here revealed a little more closely.

Acid + acidoid—base. It is significant that the excess of acids plus acidoids over bases is a minimum in A_2 , i.e., in the horizon of sesquioxide eluviation, whereas it attains a high maximum in B_1 , i.e., in the horizon of sesquioxide accumulation. On the basis of 100 cc soil the excess in B_1 is the greatest in the profile excepting A_1 . This is all in harmony with the fact that the humus acidoids, which represent the bulk of the acidity, combine with the sesquioxides as well as with the strong bases, lowering their I.E.P. and rendering them more resistant to the action of the acids. The humates of Al and Fe precipitated in the B horizon are more resistant than the free sesquioxides and their silicates, and the sub-horizons B_1 , B_2 and B_3 might be looked upon as the first, second, and third line of defence built up as a counteraction against the solvent action of an acid solution.

It is the diffusible acids, and not the acidoids, which must be held directly responsible for the ionization and solvation of the sesquioxides. The conditions which favor the production of large amounts of acids must be the conditions for podzolization. The acids in the soil come from three main sources: (1) directly from the vegetation; (2) from microbial activity and (3) from cation exchange between the soil solution and the acidoids especially the highly unsaturated humus acidoids of the A_0 horizon.

Many brown forest soils are almost completely unsaturated with bases but they are not podzolized although they may contain considerable more humus acidoids (in the form of mull as distinguished from duff or raw humus) than many podzols. The conditions for the production of acids from any of the aforementioned sources are here not so favorable. The humus acidoids are here largely in combination with sesquioxides forming a complex which, like the humates of the podzol B-horizon, has a higher I.E.P. At the low pH which prevails in the soil the mull acidoids will, therefore, develop less exchange acidity than the duff acidoids in their interaction with the seasonal increments of salts from the litter and from

the atmosphere, and since the sesquioxides in the brown soil are already in combination with humus acidoids they are better able to resist the acids.

The anode and cathode organic matter. The amounts of diffusible organic matter per gram soil which migrate to the anode and the cathode are greatest in F_0 and decrease downward to very small amounts in B_3 . There is two to three times as much anodic as cathodic material in F_0 and in the humus layer, nearly five times as much in A_1 , less than double in A_2 and twentyfive times as much in B_1 and B_2 where the diffusible cathodic material is extremely small.

On the basis of one gram loss on ignition a singular and possibly significant fact is observed. Both the anodic and the cathodic material yield on this basis a second maximum in A_2 which exceeds that of the first in F_0 . This means that in the small amount of organic matter present in the A_2 horizon there is the largest proportion of diffusible anionic and cationic material. This is easily explained because the diffusible material must, in general, in the soil be the most mobile material, the transport of which, from the A_0 to the A_2 horizon, would account for the observed relative enrichment in the latter. But what becomes of it, especially the cathodic material, in the B horizons? Is it decomposed on the way down or is it changed into a nondiffusible form in combination with the sesquioxides? We shall later (fig. 41) present evidence in support of the latter possibility.

The cathodic organic matter behaves like Al and Fe in that it makes its appearance in the cathode solution only toward the end of electrodialysis, that is, when the soil material has become highly unsaturated. This is probably because the basic group ($-\text{NH}_2$) is ionized only at low pH. It may also partly be due to Al and Fe acting as carriers of organic matter in the form of a cation complex.

The black residue obtained in the cathode compartment after electrodialysis of the F_0 material contained 3.46 percent

N. This is a relatively high percentage as compared to that of Na-humate prepared from the same material (cf. table 19) and indicates a more basic nature of the cathodic organic matter.

Before we leave table 17 it would be interesting to calculate the total quantities of acids, acidoids and bases present in the entire profile (90 cm) in one hectar. Table 18 gives the quantities expressed in CaO equivalents in tons per hectar. The values are obtained by multiplying the number of milliequivalents per 100 cc soil (table 17)¹ by the depth in cm of the horizon and then by 0.028 (= one m.e. CaO). The product equals grams CaO per dm² or tons per hectar in each horizon. By summing up the horizons we get the values for the whole profile.

Allowing for the inaccuracies in dividing up the horizons we find in the total profile (F₁—B₃) acids = 4.0 tons, acidoids = 39.93 tons and bases = 2.53 tons CaO per hectar. Because

Table 18.

The total quantities of acids, acidoids and bases in the Häggbygget podzol profile (0—90 cm) expressed in CaO equivalents in tons per har.

Horizon	F ₁	F ₂	H	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	B ₃	Total
Depth cm	0—1	2—4	5—12	13—15	16—27	28—37	38—60	61—90	0—90
Acids ' = tons CaO/har	.13	.29	.72	.24	.29	.68	.98	.67	4.00
Acidoids " "	.54	2.30	6.72	4.24	.67	9.86	11.90	3.70	39.93
Acids+acidoids " "	.67	2.59	7.44	4.48	.96	10.54	12.88	4.37	43.93
Bases " "	.16	.43	.90	.20	.11	.12	.19	.33	2.53
Acids + acidoids — bases (= tons CaO/har)51	2.16	6.54	4.19	.85	10.42	12.69	4.04	41.40

¹ Since the acidoids bind more Ca(OH)₂ than NaOH at pH 7 and since we express the results in terms of CaO we have multiplied the milliequivalents acidoids by the factor 1.57 which is taken from the work of MATTSSON & GUSTAFSSON (1935).

of the greater depth of the mineral horizons most of the acids and acidoids are found in these horizons, whereas most of the bases are still found in the humus (A_0) horizon or in the upper 12 to 15 cm of the profile.

Summing up the figures in the last row in table 18 we might state that the development of the podzol has led to a negative base balance equal to 41.40 tons CaO per hectare.

The solubility of Al in the B horizons.

The loss on ignition in the B_1 , B_2 , B_3 horizons is 12.2, 8.1, 3.7 percent and the acidoid content is 20.4, 9.8, 2.2 m.e./100 g. respectively (cf. tables 16 and 17). In order to determine the effect of these differences on the cationic solvation and solution of Al, 100 gram samples from each of the horizons were shaken for 15 hours with 500 cc solution containing:

- (1) 10.0 m.e. NaCl
- (2) 7.5 » NaCl + 2.5 m.e. HCl
- (3) 5.0 » NaCl + 5.0 » HCl.

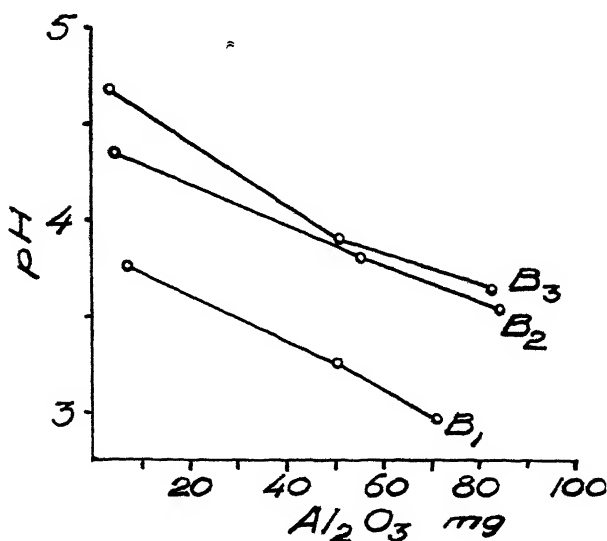


Fig. 37. The solubility of Al at different pH when materials from the B horizons were extracted with HCl.

The results of the analysis are shown in fig. 37 where the pH of the extracts are plotted against the number of milligrams of Al_2O_3 in solution. We note that the higher the humus and acidoid content the lower is the pH at which Al is solvated. The effect is proportionally much greater in the coffee brown B_1 than in the rust colored B_2 as compared to the B_3 horizon. It should be pointed out that the Al content in the gel complex of the three horizons is very much the same and cannot account for the differences in solubility. The acid oxalate soluble Al, as reported by MATTSON & HOU (1937) for the same profile, is 1.89, 2.13 und 1.93 percent in the B_1 , B_2 and B_3 respectively. There appears, therefore, to be only one explanation: The humus acidoid combines with the Al (and Fe) and lowers the I.E.P. of the sesquioxide thus rendering it more resistant to the action of acids. The pH in this experiment was not low enough to bring out any significant differences in the solubility of Fe, and then the behavior of this element is complicated by its appearance in two states of oxidation as we shall see later.

The humates of aluminum and ferric and ferrous iron.

In the first paper of this series it was shown that large quantities of organic matter were cationically solvated on the acid side of the I.E.P. of the soil. At the lowest pH (3.13) of the extract the B_2 material of the Haggbygget podzol yielded 0.888 g. organic matter to 0.6668 g. Al_2O_3 and 0.0172 g. Fe_2O_3 or 130 g. organic matter per mol sesquioxide (cf. table 3). On mixing the B_2 material with increasing quantities of raw humus (H layer) the pH of minimum solvation, i.e., the I.E.P. of the system, was lowered but there was no definite increase in the amount of cationically solvated organic matter, if allowance is made for the (soluble) organic matter which remained in solution at the points of minima and which increased with increasing quantities of raw humus. It appeared, therefore, as if all the cationically solvated humus came from the humates in the B_2 material.

The cationic sol obtained from the B₂ material could not be precipitated below its I.E.P. no matter how much acid was added (it can only be precipitated by alkali), whereas the synthetic humates of corresponding composition precipitate their humus at low pH where Al and Fe dissociate as single ions (cf. tables 13 and 14 and fig. 33).

It appears therefore probable that the amphoteric humates of the soil constitute a distinct type of organic matter identical with WAKSMAN (1926) β -humus.¹

Like the natural amphoteric hydrous silicates these humates appear to be quite stable. Thus podzols buried by sand dunes have been observed which possess no trace of a humus (A₀) layer but which still contain their B horizon humates conserved in spite of good aeration and otherwise favorable conditions for decomposition.

The aim of the following experiments was to study further the formation and behavior of the humates of Al and Fe. For this purpose we first studied the action of the sulphates of aluminum and ferric and ferrous iron on untreated raw humus from the H-layer of the Hågbygget podzol as follows:

¹ The two forms of humus, the ordinary alkali soluble peat humus or humic acid and the alkali and acid soluble (amphoteric) soil humus have been studied by WAKSMAN (1926) under the name of the α and β -fraction respectively. WAKSMAN extracted both fractions anionically at high pH by treating the soil with NaOH. He then precipitated the α -fraction with an excess of HCl which held the β -fraction cationically solvated. The latter was then precipitated at its isoelectric point. A sample of β -humus which Dr. WAKSMAN sent to one of the authors in 1926 for a cataphoretic examination gave the following results:

pH	8.2	6.2	5.4	5.2	4.8	4.0
cataphoresis: μ /sec. 1 volt/cm	-3.62	-1.72	-0.95	-0.37	+0.58	+1.26

By interpolation we find that the isoelectric point of the complex was slightly above pH 5. The material contained about 50 percent Al₂O₃.

Al series I:

10.2 m. mol $\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2$,
12.5 g. H-humus
x m.e. H_2SO_4 or y m.e. NaOH
Liquid volume = 1 000 cc.

 Fe^{III} series I:

10.0 m. mol $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$
12.5 g. H-humus
x m.e. H_2SO_4 or y m.e. NaOH
Liquid volume = 1 000 cc.

 Fe^{II} series I:

10.5 m. mol $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$
12.5 g. H-humus
x m.e. H_2SO_4 or y m.e. NaOH
Liquid volume = 1 000 cc.

The mixtures, whose pH values were adjusted by adding H_2SO_4 or NaOH, were shaken for 20 hours. The clear filtrates were then analysed for pH, organic matter and for Al and Fe.

The pH was determined colorimetrically in a Taylor comparator. The organic matter and the ferrous iron were determined by titration with n. 0.1 KMnO_4 . The permanganate solution was added in excess to the acidified solution. After boiling, the mixture was decolorized with n. 0.1 oxalic acid, the excess of which was determined by back titration with KMnO_4 . The solution was then passed through a cadmium reducer and titrated for Fe. The difference between the two titrations was ascribed to organic matter.

In a mixture of ferric and ferrous iron it was found possible to determine both with a fair degree of accuracy by the permanganate method. By adding the permanganate solution drop by drop, but as rapidly as possible, to the cold solution the end point for the ferrous iron could be found. The organic matter was then oxidized as before in the hot solution

and finally the total iron was determined. The latter minus the ferrous iron gave the amount of ferric iron.

The experiment with the untreated raw humus yielded, in this as in the previous experiment, no cationic solvation of organic matter (cf. fig. 38 I). The failure of the humus to solvate together with Al and Fe might be caused by too large a proportion of humus or it might be due to the inability of the dried humus to peptise in an acid medium. We therefore carried out two new experiments, one with the same proportion of humus (series II) and one with only one fourth as much humus (series III) but instead of adding the dried raw humus directly to the salt solution we activated it first by digesting it for 18 hours with an excess of NaOH. The series were prepared by mixing two solutions (a) and (b) as follows:

Al series II:

(a) 12.5 g.	H-humus	
60.0 m.e.	NaOH	= 500 cc
(b) 10.2 m. mol	$\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2$	
x m.e.	H_2SO_4	= 500
		<hr/> = 1 000 cc

Fe^{III} series II:

(a) 12.5 g.	H-humus	
60.0 m.e.	NaOH	= 500 cc
(b) 10.13 m. mol	$\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$	
x m.e.	H_2SO_4	= 500
		<hr/> = 1 000 cc

Fe^{II} series II:

(a) 12.5 g.	H-humus	
60.0 m.e.	NaOH	= 500 cc
(b) 10.0 m. mol	$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$	
x m.e.	H_2SO_4	= 500
		<hr/> = 1 000 cc

Al series III:

- (a) 3.125 g. H-Humus
 15.0 + y m.e. NaOH = 500 cc
- (b) 10.4 m. mol $\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2$
 x m.e. H_2SO_4 or = $\frac{500}{}$ »
 = 1 000 cc

Fe^{III} series III:

- (a) 3.125 g. H-humus
 15.0 + y m.e. NaOH = 500 cc
- (b) 10.0 m. mol $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$
 x m.e. H_2SO_4 or = $\frac{500}{}$ »
 = 1 000 cc

Fe^{II} series III:

- (a) 3.125 g. H-humus
 15.0 + y m.e. NaOH = 500 cc
- (b) 10.0 m. mol $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$
 x m.e. H_2SO_4 or = $\frac{500}{}$ »
 = 1 000 cc

The mixtures were shaken for 2 hours filtered and analysed. The result of the three experiments are shown in figures 38 and 39. The figures bring out the relationships better than the tabulated data, the omission of which will save considerable space.

It will be seen in figure 38 that the treatment of the humus with NaOH causes some of the humus to be cationically solvated by Al and Fe in both series II and III. The failure of the untreated raw humus to solvate on the acid side of the I.E.P. of the system (series I) must be ascribed to an inherent property which thus distinguishes it from the amphoteric humates in the mineral soil which readily solvate in an acid medium. Such amphoteric humates were undoubtedly formed in all three of the series. But whereas the Al and Fe ions in series II and III reacted with the highly solvated Na-

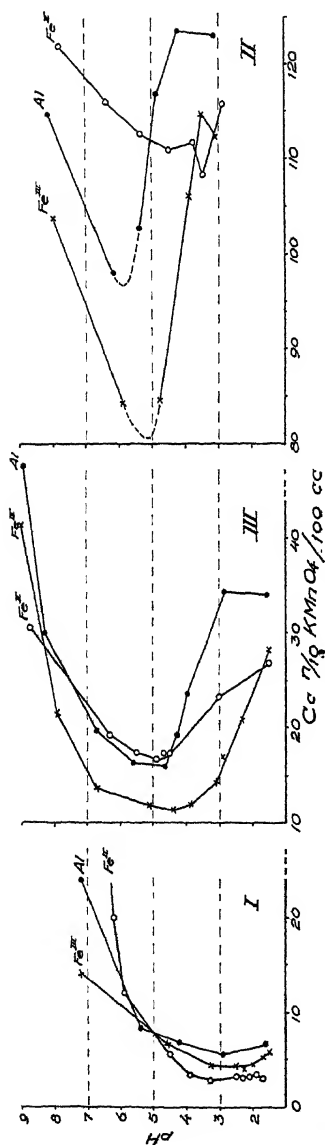


Fig. 38. The anionic and cationic solvation of organic matter in systems containing raw humus and salts of Al and Fe. (Cf. text on pages 89—91 and fig. 39.)

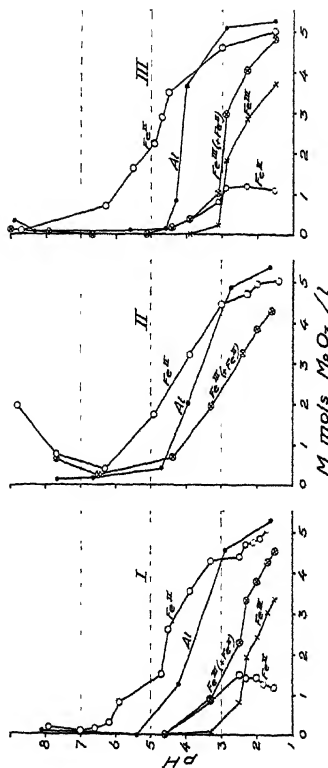


Fig. 39. The solution of aluminum and ferric iron in systems containing salts of these metals together with raw humus. (Cf. text on pages 89—91 and fig. 38.)

humate, these ions could, in series I, only combine with the acidoid groups on the surface of the large raw humus aggregates. Upon ionization at low pH the Al and Fe did, therefore, not carry any associated humus in solution. That their going into solution was retarded by their attachment to the humus is evident by the low position of the curves in figure 39.

The amount of organic matter solvated on the acid side by Al and ferric iron is about as great in series III as in series II and amounts to a permanganate value of from 40 to 60 cc n. 0.1 KMnO_4 per m. mol M_2O_3 . This is considerably less organic matter than was obtained by extracting samples from the B_1 and B_2 horizons with sulphuric acid at pH from 1.0 to 2.7. We thus found permanganate values from 130 to 150 cc per m. mol M_2O_3 dissolved. This again points to a fundamental difference between the two forms of humus.

In series III the ferrous iron shows a definite solvating effect, but in series II, which contains four times as much humus, there is no such effect. This recalls what we observed in connection with the synthetic humates of aluminum and ferric iron (tables 13 and 14); where there was too much humus there was no cationic solvation either because the system remained electronegative at every pH or because the maximum positive charge never attained a critical value.

Ferrous hydroxide is isoelectric at a pH about 9.6 and forms series of isoelectric precipitates with silicic and humic acids. The difficulties of getting reproducible values for these series are so great that we have not considered it advisable to publish the data obtained. It appears, however, that the I.E.P. of ferrous hydroxide is lowered by relatively smaller amounts of silicic and humic acids than in the case of aluminum and ferric hydroxides. It also appears evident that the ferrous ion is much less firmly bound to the silicate and humate ions; that their compound is extensively dissociated and that the ferrous ion, therefore, to a large extent enters in the soloid bound condition at the expense of the colloid bound ions. The ferrous ions exist largely in the exchangeable condition.

It is, perhaps, by these relationships that the position of the curves for ferrous iron in figure 38 is to be explained. The fact that nearly one half of the ferrous ions are in solution at the point of minimum for organic matter in series III shows how unstable the ferrous humates are (weak colloid binding) and it also shows that the humus content of the system is nearing a maximum for the isoelectric precipitation. More humus would mean a lower I.E.P., but a lower pH would lead to the solution of still more ferrous ions. The system could therefore not become isoelectric and this is exactly what has happened in series II. The reduction of ferric to ferrous iron must, therefore, lead to a greater mobility in the soil, not only of the iron but also of the organic matter.

The treatment of the raw humus with NaOH has another effect in that it changes a certain fraction of the organic matter into a form which is soluble in an acid solution and not precipitated by Al and Fe at the I.E.P. of the system. This fraction is relatively as well as absolutely greater in series II than in series III due, obviously, to the greater concentration of free NaOH₂ in the former. Of this fraction the ferric ions precipitate isoelectrically more than the Al ions and the latter more than the ferrous ions.

The soluble fraction of organic matter which is formed through the action of bases on raw humus consists largely of diffusible acids. This is shown by the following experiment conducted in connection with a study of the acid/base condition in humus to be published later.

A sample of 40 grams raw humus yielded 4.85 m.e. electrolyseable acids and 4.45 m.e. bases. The sample was then shaken over night with 60 m.e. CaO and again electrolysed. This was repeated four times. The quantities of electrolyseable acids removed were 14.3, 7.0, 6.1 and 5.4 m.e. after the first, second, third and fourth treatments with base respectively. On the basis of 100 gram humus the base thus liberated (by oxidation and hydrolysis) about 82 m.e. diffusible acids. The nitrogen content of the NaOH extract of the once electro-

dialysed humus was 2.7 percent whereas the organic matter in the combined anode solutions contained only 1.1 percent N. The titration of the once electro'dialysed and of the four times electro'dialysed humus by H_2SO_4 and $\text{Ca}(\text{OH})_2$ gave the following results in m.e. per gram humus:

H_2SO_4 m.e./g.	0.4	0.0				
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ " "		0.0	0.4	0.8	1.0	1.2
pH of once electro'dialysed humus	2.20	2.83	4.47	6.20	6.80	7.26
pH of four times electro'dialysed humus	2.23	2.89	4.37	5.85	6.64	7.22

It will be seen that the four times electro'dialysed humus has lost nothing of its power to bind base (a small gain may be noted) for although it has given off 0.82 m.e. acids per gram it still binds over 1 m.e. per gram at pH 7.0. There is some gain in the power to bind acid as might be expected from the loss of chiefly non-nitrogenous matter but this gain is too small to be significant.

It should be added that the treatment changed the appearance of the humus from a fibrous brown material to a fine grained black powder resembling mull.

There are many facts which make it probable that similar changes occur under natural conditions but this question will be dealt with later.

The solvation and solution of the aluminum, and the ferrous and ferric iron in the different series is shown in figure 39. The following significant facts should be noted:

The ferrous ions pass into solution in appreciable amounts at pH between 6 and 7, the aluminum ions not until a pH about 5 and the ferric ions not until a pH well below 4 has been reached. This is in agreement with the relative position of the I.E.P.'s of the three hydroxides and their humates.

The great difference in the pH at which the cations and cationic complexes of ferrous and ferric iron become mobile

plays a very important roll in relation to the oxidation-reduction conditions in the soil. It is thus well known that reducing conditions lead to a mobilization of ferrous iron whereas oxidation leads to fixation of ferric iron (gley formation). But it is not yet established in what form the cationic solvation of iron in the very acid A horizon of the podzol takes place.

In the experiments with ferric iron it was found that a large part was reduced to the ferrous condition. (The reduction of ferric to ferrous iron in the presence of soil organic matter appears to be quite general because all cationic solvates obtained from the B horizon have been found to contain both forms of iron). We therefore determined the ferrous iron in the ferric systems in two of the series as above described. It will be noted (series I and III) that the reduction to ferrous iron occurs only below a pH about 5. We may assume this to be due to the fact that above this pH there is no ferric iron ionized and therefore no reduction.

Applying this to the podzol profile we might conclude that both ferric and ferrous ions are solvated in the A horizon in an equilibrium which is governed by the oxidation-reduction potential. In the B horizon where the pH is higher the ferric complex is precipitated. The disturbed equilibrium causes ferrous iron to oxidize until practically all the iron is converted into a precipitated ferric gel complex.

It is interesting to note that at low pH, after a certain amount of ferric iron appears in solution, the amount of ferrous iron formed remains constant. This accounts, at least in part, for the dependency of the oxidation-reduction potential on the pH. We might say that the organic matter has become »oxidation saturated» with respect to the ferric ion.

In series II (fig. 39), which contains the largest amount NaOH treated humus and also of acid soluble organic matter, we note that some Al and Fe is kept in solution even at the points of minima and that there is a considerable anionic solvation of ferric and ferrous iron already at pH as low as

7 to 8. These phenomena we ascribe to the formation of complex anions and of anionic sol complexes respectively.

Ferric humate is less easily hydrolysed than Al-humate and ferric iron is, therefore, more extensively anionically solvated by the humus. That ferrous iron also appears in the anionic sol is not surprising since this ion enters in the saloid-bound condition (exchangeable like Ca).

The appreciable solubility (in series II) of Al and ferric iron at the points of minima for organic matter is probably due to the high content of non-precipitable organic acids, some of which undoubtedly form complex anions with the metal cations. Thus it has been found that the anode solution obtained by the electrodialysis of humus possesses a strong solvent action on soil sesquioxides even at high pH (between 5 and 7). This solvent action is however partly or wholly inhibited by the addition of sufficient humus acidoid.

Many soil students account for the eluviation of the sesquioxides on the basis of the formation of such complex anions. The difficulties come in when they have to account for the precipitation in the B horizon. We shall not deny that such complex anions may be formed, as they apparently are in series II fig. 39, but to the extent that they are formed in the soil they must, like the anionic sol complex, be removed by leaching and not precipitated in the B horizon.

The anionic and cationic solvates.

In the following we have made a study of the composition and properties of the anionic and cationic solvates obtained by dispersing the soil materials with NaOH and H_2SO_4 respectively.

The anionic solvates were prepared by adding a slight excess of the calculated amounts of NaOH to neutralize 200 grams of the organic samples and 1 000 grams of the mineral samples suspended in 2 liters of water. After thorough shaking they were allowed to settle for several days and then centrifuged.

The cationic solvates were prepared in the same manner from the mineral samples by treatment with H_2SO_4 to a pH below 2. This low pH was necessary to get a sufficiently concentrated solvate.

The pH and the composition of the solvates are shown in table 19. The base exchange capacity was determined by adding a neutral Ca-acetate solution to the slightly acidified solvates and then leaching the precipitated fraction in a filter crucible with the acetate solution in the usual manner. The exchange capacities given in the last column of the table are based on the loss on ignition of the precipitated fraction.

Table 19.

The composition of the anionic solvates obtained by treating the F_0 , F_2 , A_1 , B_1 and B_3 materials with a slight excess of NaOH (pH 7.3–8.4) and of the cationic solvates obtained by treating the B_1 and B_3 materials with H_2SO_4 (pH 1.7 and 1.6). Also the base exchange capacities of the Ca-precipitated complex.

A. Anionic solvates.

Solvate	pH	C mg/100 cc	Loss on ignition mg/100 cc	KMnO ₄ n. 0.1 cc/100 cc	SiO ₂ mg/100 cc	Al ₂ O ₃ mg/100 cc	Fe ₂ O ₃ mg/100 cc	C/N	g. C/m. mol M ₂ O ₃	SiO ₂ /M ₂ O ₃	Base exch. m.e./ g. Loss on ign.
F_0	7.7	361.5	809.0	1 300	6.8	5.6	0.8	95.9	10.2	2.00	1.47
F_2	7.7	691.8	1 090.7	1 550	10.1	7.7	3.2	27.1	6.9	1.70	2.44
A_1	7.4	365.4	574.3	955	2.5	6.0	6.4	24.8	3.7	.40	4.22
B_1^-	7.3	638.1	1 157.8	1 260	93.1	127.0	287.4		.21	.51	4.83
B_3^-	8.4	253.7	504.1	477	50.7	113.1	41.1		.19	.61	4.72

B. Cationic solvates.

B_1^+	1.7	102.8	—	201	27.0	213.4	75.0		.04	.18	.26
B_3^+	1.6	238.9	—	416	135.0	435.2	41.6		.05	.50	.48

Table 20.

The relationship between the carbon content, the loss on ignition and the permanganate value (=cc n 0.1) in the various solvates in table 19.

C = 100 mg. (B^- = anionic solvate. B^+ = cationic solvate).

Solvate:	F_0	F_2	A_1	B_1^-	B_3^-	B_1^+	B_3^+
Carbon mg.	100	100	100	100	100	100	100
Loss on ignition mg.	144.0	157.6	157.2	181.1	198.6	—	—
KMnO ₄ n. 0.1 cc	231.5	224.0	261.3	197.4	188.0	195.5	174.1

The carbon was determined by the chromic acid wet combustion method (with Ag_2SO_4) by TIURIN (CROWTHER 1935). The analyses were duplicated with good agreement. The loss on ignition was corrected by subtracting the water coming from the inorganic gels, estimated at 16 percent of the weight of the gels ($SiO_2 + M_2O_3$). The cationic solvates were neutralized with NaOH before the evaporation and ignition.

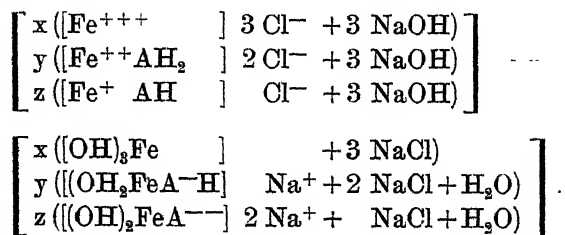
The three series of values: the carbon content, the loss on ignition and the permanganate values are best compared on the basis of 100 mg. carbon. This has been done in table 20.

Because of the high ash content and the conversion of some of the organic matter into stable carbonates the loss on ignition values are very inaccurate. The permanganate values are undoubtedly more reliable and significant and have been used throughout in our study of the solvates because of the simplicity of the method. These values vary from 174.1 cc in the B_3^+ solvate to 261.3 cc in the A_1 solvate per 100 mg. carbon. The permanganate values are higher in the solvates from the horizon of humus accumulation than in the solvates from the mineral soil and show therefore a greater reducing capacity per unit carbon in the former solvates.

A comparison of the composition of the anionic and cationic B-solvates with respect to the sesquioxide content is especially instructive. The major portion of the sesquioxides exist un-

doubtedly in combination with the humus acidoid, the silicate fraction being the smallest. The great amount of anionically solvated iron in B_1 shows that the ferric humates dominate in this horizon whereas in the lower B_3 horizon it is the Al-humates which dominate. The same relationship is indicated by the composition of the cationic solvates, for although the pH is here not low enough to bring about an extensive solvation of the ferric humate we will note an increase in Al and a decrease in Fe as we go from B_1 to B_3 . This is all in agreement with the laws of isoelectric precipitation: The ferric humates have a lower I.E.P. and are precipitated at a lower pH (i.e., in B_1) than the Al-humates of corresponding composition.

The anionic solvation of the sesquioxides and the cationic solvation of the humus acidoid is ascribed to the stability of the amphoteric humates which become solvated before their complete hydrolysis. RONE (1938) does not accept this explanation but believes instead, with many others, that Al and Fe pass in solution only as single ions and cites the equivalence between acidity and sesquioxides as evidence. They forget that the acidoid groups in the amphoteric complex bind a certain amount of base and represent therefore a part of the acidity. The equivalence, which is always only approximate, must be accounted for by including the acidoid groups as illustrated by the equations (where H_3A represents such a group):



By such a scheme we can easily account for an approximate equivalence between acidity and sesquioxides when the system

is titrated to anywhere from pH 7.0 to 8.4. An estimate of the part played by the acidoids can be obtained by electro-dialysing the colloid and titrating it alone or by determining the base exchange capacity.

But it is important to note that it is not the unaltered gel complex which undergoes solvation because the anionic solvates are relatively richer in humus (and SiO_2) and the cationic solvates are relatively richer in sesquioxides.

We have no way of expressing the exact acidoid/basoid ratio, for we do not know either the quantity of humus acidoid present or its equivalent weight, which, as we shall presently see, varies considerably. We have therefore expressed the relationship between acidoids and basoids in the solvates separately in terms of grams carbon/millimols sesquioxides and mols SiO_2 /mols M_2O_3 . We observe that there is about four to five times as much carbon per millimol sesquioxide in the anionic B-solvates as in the cationic solvates. The composition of the gel complex in the original soil material must be intermediate. On the basis of the loss on ignition and the amounts of acid oxalate soluble sesquioxides obtained by MATTHEWSON & HOW (1937) on other samples of the same profile we do actually find such intermediate values for the composition of the gel complex.

These facts are in complete agreement with the theory of isoelectric weathering according to which the anionic sol complex must be more acidic, i.e., have a lower I.E.P. than the parent gel complex and the cationic sol complex must be more basic, i.e., have a higher I.E.P. than the parent gel complex.

If we now look at the base exchange capacities we find that in the humus layer these increase greatly from F_0 to A_1 . Since these values are expressed per gram Ca-precipitated humus colloid and not per gram total organic matter in the solvates we can only draw one conclusion, namely, that the equivalent weight of the humus acidoid decreases from F_0 to A_1 .

If we compare these values with the capacities (per gram loss on ignition) of the original humus to bind NaOH at pH

7.0 (cf. table 17) we find the following significant relationship (table 21):

Table 21.

(a) The capacity of the original humus to bind NaOH at pH 7.0 (cf. table 17 loss on ignition basis) and (b) the Ca-exchange capacity of the precipitated humus acidoid (cf. table 19).

M a t e r i a l	F ₀	F ₂	A ₁
(a) Original humus m.e. NaOH/100 g. . .	42	78	130
Ratio	1	1.86	3.10
(b) Precipitated humus m.e. Ca/100 g. . .	147	244	422
Ratio	1	1.66	2.86
Ratio b/a	3.50	3.13	3.24

The comparison shows a proportionality which is not likely to be accidental. The fact that the capacity to exchange Ca is 3.13 to 3.50 (average 3.29) times as great as the capacity to bind NaOH at pH 7 is due partly to the greater displacing power of Ca as compared to Na and partly to the high degree of dispersion of the Ca-precipitated humus acidoid as compared to the original raw humus. The significant thing, however, is here not the differences between the two series of values but the proportionality. The fact that this proportionality in the capacity to bind base, i.e., in the acidoid equivalence, is maintained in the fraction which is solvated from the raw humus and precipitated by Ca points to a fundamental difference in the acidoids of the various forms of humus and of the plant material (F₀). Thus the great capacity of old and extensively transformed humus is apparently not due to the presence of a larger proportion of some definite »humic acid» or »humus nucleus». It is more likely due to an increase in the number of acidoid groups (through oxidation of ring side chains and of carbohydrate end groups and through hydrolysis). Such acidoid groups are present in the original plant material and are not a distinctive property of humus.

The four B solvates cannot be compared with the solvates of the humus layer because the former contain a high proportion of sesquioxides and a considerable amount of silica. The analysis of the Ca-saturated gels obtained by precipitating the B solvates with the Ca-acetate solution showed the following composition on the basis of oven dry material (105° C):

Solvate	B ₁ ⁻	B ₃ ⁻	B ₁ ⁺	B ₃ ⁺
Ash %	42.9	43.3	52.8	49.6
SiO ₂ %	5.7	6.2	0.8	7.6
M ₂ O ₃ %	29.4	31.3	51.8	41.5

If we look at the base exchange capacities (table 20) of these gels we are at once struck by the surprisingly high values for the anionically extracted complex and by the relatively low values for the cationically extracted complex. The complex in the B⁻ solvates has a higher base exchange capacity than was found for any of the solvates from the humus layer including A₁. On the basis of the figures given in table 15 (columns 5 and 6) a complex with the proportions of sesquioxides present in B₁⁻ and B₃⁻ should have less than one half of the exchange capacity possessed by the same amount of *free* humus acidoid. Since the silica accounts only for a small part of the exchange capacity we must, therefore, conclude that the humus acidoids possess a lower equivalent weight in the B than in the A horizons.

Humus possessing a low acidoid equivalent weight must be more strongly polar, more highly charged, and therefore more easily solvated and eluviated than humus with a high equivalent weight. We must therefore expect to find this type of humus to dominate in the B horizon, a fact already recognized by ARNOLD & PAGE (1930) who found the subsoil humus more readily soluble in cold alkali than the organic matter of the surface soil.

But why do not the humus acidoids associated with the sesquioxides in the cationic solvates possess an equally high power to bind base? These complexes contain a higher proportion of sesquioxides, it is true, but the differences in exchange capacities are too great to be accounted for on this basis. Is the organic matter in the B horizon, which is cationically carried in solution by the sesquioxides, so firmly united to Al and Fe that only a very small acidoid residue (smaller than in the case of the synthetic humates, cf. table 15) is available for exchange at pH 7.0, or is the cationically solvated organic matter in the B horizon of a different nature from that of the humus acidoids? These questions can not now be answered.

The precipitation of the anionic and cationic solvates.

The various solvates were studied with respect to their precipitation, the anionic by acid and the cationic by alkali. To save space we shall omit the tables and present the results graphically, a procedure which we consider most satisfactory when it is a question of relationships rather than single values.

Figure 40 shows the percentage of organic matter precipitated at different pH by adding H_2SO_4 to the anionic solvates and NaOH to the cationic solvates. The organic matter was determined, in this as in all the following experiments, by the permanganate method. The permanganate value of the original solvate is put = 100 and that found in the centrifugate after the precipitation is expressed as percentage of the total. In addition to the solvates given in table 19 we have here included an anionic solvate from the A_2 horizon.

We note in figure 40:

1. That there is a maximum in the precipitation in all cases.
2. That maximum precipitation occurs at the lowest pH in F_0 at 1.40, at somewhat higher pH in F_2 , A_1 and A_2 or about 1.75 to 2, about 2.5 in B_1^- , about 3.75 in B_3^- and finally at pH about 5 to 5.5 in the cationic solvates B_1^+ and B_3^+ .

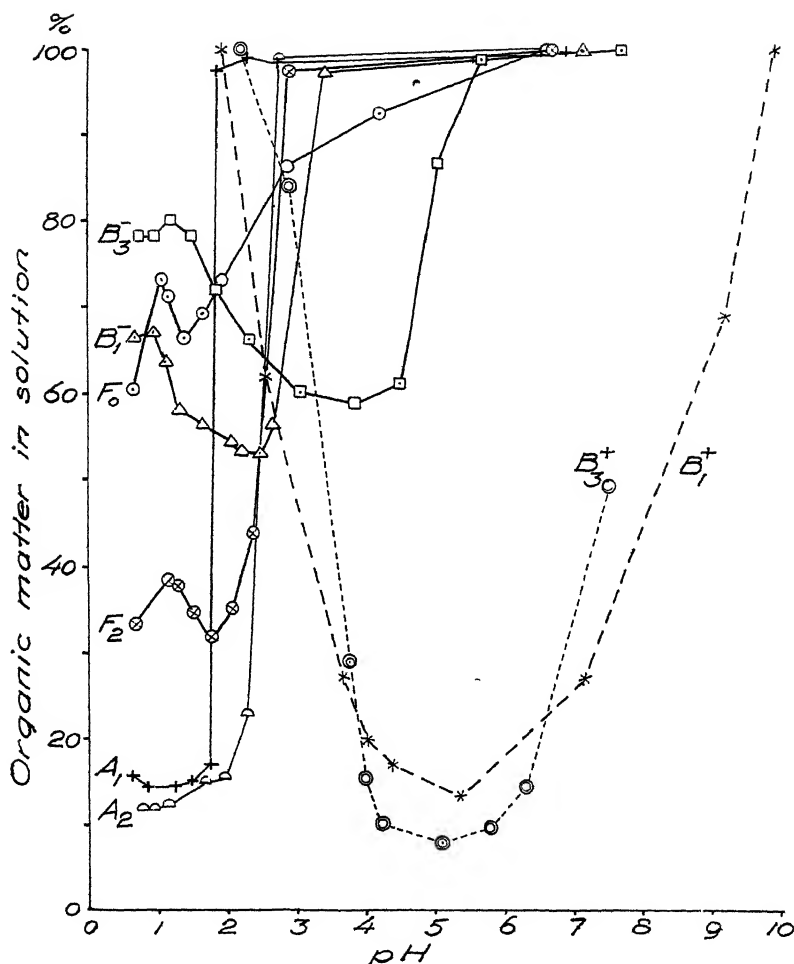


Fig. 40. The precipitation of the anionic solvates by H_2SO_4 and the cationic solvates by $NaOH$. (Cf. table 19.)

3. That, in the case of the anionic solvates, the amount of organic matter precipitated by acid (at the maxima) increases from F_0 , where it is less than 40 percent, to A_3 , where it is nearly 90 percent. It then decreases to 47 percent in B_1^- and 41 percent in B_3^- . In the cationic solvates the amount precipitated is about 87 percent in B_1^+ and 92 percent in B_3^+ .

Concerning the first point we know that the maximum precipitation is an expression of the amphoteric nature of the complex, but from what we have been able to show in connection with the Gaarder effect (MATTSON & KARLSSON 1938) we must not identify this maximum with the I.E.P. The trend toward a second maximum at pH below 1 must be ascribed to the flocculating effect of the divalent SO_4 ion on the electropositive complex.

Concerning the second point we shall find an explanation to the relative position of the maxima by studying the composition of the solvates as given in table 19.

In the case of the solvates from F_0 to A_1 (and A_2) which contain insignificant amounts of sesquioxides we may assume that it is the organic basoids (NH_2 -groups) which together with the acidoids govern the amphoteric behavior. The high ratio of carbon to total nitrogen in F_0 as compared to F_2 and A_1 indicates a weaker basoid content and would account for the occurrence of the maximum in precipitation at a lower pH in F_0 .

The ratio of gram carbon to millimols sesquioxides is 0.21 in B_1^- and 0.19 in B_3^- . The B_3 has, therefore, only a slightly higher proportion of sesquioxide basoids while the maximum precipitation occurs over one pH unit higher than that of B_1 . But here it is obviously the *kind* of sesquioxide which dominates. Alumina is a stronger basoid than Fe_2O_3 and it is the stronger alumina which dominates in B_3 whereas ferric oxide dominates in B_1 . Considering the relatively high proportion of sesquioxides in these solvates one might expect the precipitation maxima to occur at higher pH than they do (cf. tables 13 and 14). But the anionic solvates contain a good deal of silicate-bound sesquioxides. The humates have, therefore, here a lower I.E.P. than the ratios in the solvates would indicate.

The high pH at which the cationic solvates have their maxima is of course accounted for by the high proportion of sesquioxides and their high I.E.P.s. The B_1^+ is slightly more

basic (C/m. mol $M_2O_3 = .04$) than B_3^+ (C/m. mol $M_2O_3 = .05$) which, in addition, contains more SiO_2 , and this reflects itself in the precipitation maxima in figure 40 where the maximum for B_1^+ occurs at a slightly higher pH.

Concerning the third point it will be more difficult to account for some of the differences in the amounts precipitated.

That the F_0 solvate contains so much organic matter which is not precipitated by acids is quite obvious. The plant material has never been leached or subjected to microbial decomposition. It therefore contains large amounts of soluble organic compounds which are not precipitated by acids. That the acid-soluble fraction nevertheless contains organic acidoids which are precipitated by the sesquioxides and by proteins will be shown later (fig. 41).

From the point of view of the pedogenic process we shall tentatively divide the soil organic matter into three fractions as follows.

- A. Acid-precipitated, M_2O_3 -precipitated.
- B. Acid-soluble, M_2O_3 -precipitated.
- C. Acid-soluble, M_2O_3 -soluble.

To this pedogenic division of the soil organic matter the objection might be made that the acid does not precipitate the A-fraction before a pH has been reached which is far below that prevailing in most soils. But it must be remembered that this is only true of Na-humates which begin to solvate immediately above the I.E.P. In a leached and acid soil there is hardly any Na-humates. The humate fraction consists chiefly of Ca-humates and these are only slightly more soluble than the free humus acidoid (cf. fig. 43).

There is however appreciable amounts of NH_4 -humates and these would, like the Na-humates, readily solvate down to very low pH. Thus, after leaching with normal $CaCl_2$, adding MgO to the filtrate and distilling, we found the following quantities of NH_3 per 100 grams loss on ignition:

Material:	F ₁	F ₂	H	A ₁
Me.NH ₃ 100 g	1.33	1.76	2.42	3.80

The gradual increase from F₁ to A₁ points to a movement of humus in the form of NH₄-humate as claimed by REMEZOW (1938) whose theory undoubtedly accounts for a part of the transport.

In a soil profile, like the podzol, which has an acid reaction and is subjected to leaching, the A-fraction will largely remain in the A-horizon. The B-fraction will to a large extent be leached down into the B-horizon, where it will be isoelectrically precipitated in combination with the sesquioxides (which are mobilized in the A-horizon by the action of the acids in the C-fraction and by the mineral acids). The C-fraction will, if not decomposed, be leached out of the soil.

On the basis of this scheme we can satisfactorily account for the results shown in figure 40. Thus F₀ contains large amounts of the B- and C-fractions and hence a proportionally small amount of the A-fraction. The F₂ and, especially, the A₁ and A₂ horizons have lost most of the B- and C-fraction by decomposition and leaching. The F₂, A₁ and A₂ solvates contain, therefore, large amounts of the A-fraction.

Regarding the amounts precipitated in the B₁ and B₂ solvates it must be pointed out that the organic matter should, according to the assumption, here chiefly consist of the B-fraction and should, therefore, not be precipitated by acid at all. That it is partly precipitated, although to a lesser degree than in the case of the F₂, A₁ and A₂ solvates, must be due to the sesquioxides present. That the precipitation is not greater than it is, must be ascribed to the fact that the proportion of sesquioxides is here (in the solvates) smaller than in the original parent gel complex in the B horizons. Add to this that the I.E.P.s of the solvates are apparently so low that a large part of the sesquioxides remain ionically dispersed

and we can easily understand why so little of the organic matter precipitated in the B_1^- and B_3^- solvates. It has, unfortunately, not yet been possible to separate the sesquioxides from the humus in the B-horizon complex. We can therefore not study the properties of this humus in the free state and thus test our theory.

The B_1^+ and B_3^+ solvates consists largely of the B-fraction of organic matter. The proportion of sesquioxides is here very high. An extensive precipitation is, therefore, possible even if, as we have tentatively assumed, the organic matter in the B horizon consists largely of compounds which are not precipitated by acid alone.

Precipitation with protein and with sesquioxides.

The F_0 anionic solvate contains large amounts of organic matter not precipitated with acid. In order to find out how far the organic matter in this solvate would form amphoteric compounds with the proteins and with the sesquioxides and thus be brought to an isoelectric precipitation the following three series were prepared by adding the same amounts of material to a large number of containers together with enough water to make a total volume of 50 cc. The pH was adjusted, as before, to cover a wide range. The organic matter present in the centrifugate obtained after the precipitation was determined by the permanganate method and expressed as percent of the total amount present.

Series 1. The proteinated F_0 solvate:

3.25 cc $F_0 = 18.25$ mg. C

5.0 » Albumen solution = 25 mg. Albumen ovi

x m.e. H_2SO_4 or y m.e. NaOH

Water to make 50 cc.

Series 2. The aluminated F_0 solvate:

3.25 cc $F_0 = 18.25$ mg. C

2.0 m. mol $AlNH_4(SO_4)_2 = 102.2$ mg. Al_2O_3

x m.e. H_2SO_4 or y m.e. NaOH

Water to make 50 cc.

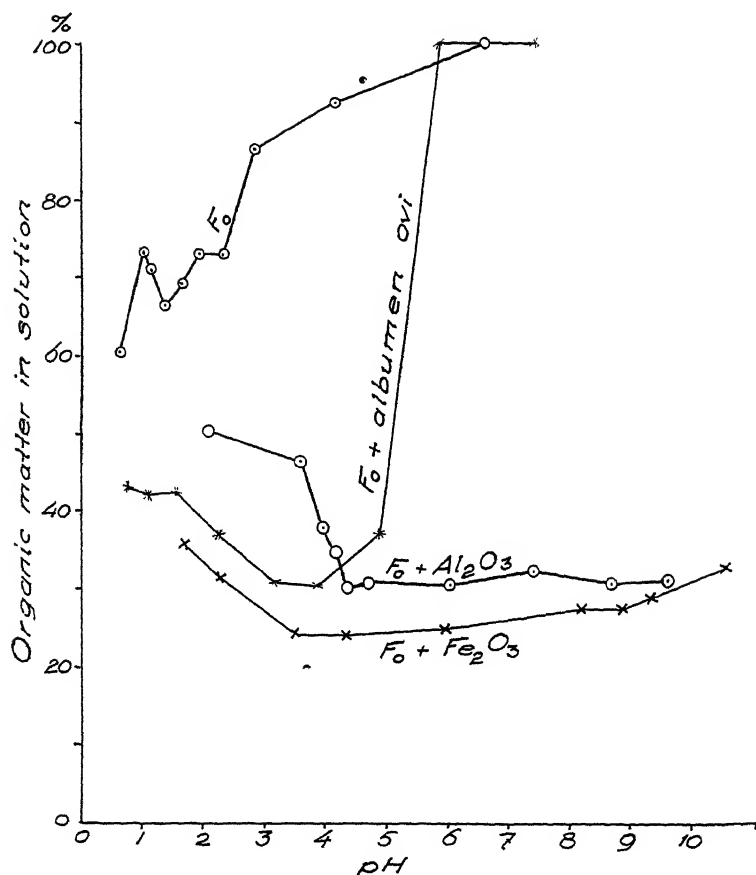


Fig. 41. The precipitation of the F_0 solvate in the presence of relatively large amounts of albumen and of Al and Fe.

Series 3. The ferric oxide — F_0 solvate:

3.25 cc $F_0 = 18.25$ mg. C

2.0 m. mol $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 = 160$ mg. Fe_2O_3

x m.e. H_2SO_4 or y m.e. NaOH

Water to make 50 cc.

The results, graphically presented in figure 41, show that whereas the original solvate precipitated only to the extent

of about one third of its organic matter, the proteinated and the aluminated solvates precipitated to the extent of about two thirds while in the ferric system the precipitation amounted to as much as three fourths of the organic matter at the point of maximum precipitation. Since the sesquioxides were added in considerable excess we may conclude that all the sesquioxide-precipitable organic matter was precipitated. Stated in terms of the above scheme we might, therefore, say that the F_0 solvate contains approximately one third of the A-fraction, one third of the B-fraction and one third of the C-fraction. The differences between these fractions form a very interesting and important chapter which must be left for future study.

The behavior of these fractions is perhaps not so much an expression of different classes of compounds as an expression of differences in dispersion associated with differences in the density or concentration of active groups (acidoid and basoid). Thus if the A-fraction represents the least dispersed forms of soil organic matter and the C-fraction the highest (molecular) form of dispersion then the B-fraction may be assumed to occupy an intermediate position.

The increase in the precipitation caused by protein might explain why the C/N ratio is generally lower in the B than in the A horizon in the podzol profile (SCHMUZIGER 1935).

Having found that only about one half of the organic matter in F_0 not precipitated by acid, could be precipitated by sesquioxides and by albumen, the next step was to find to what extent the organic matter in the anionic B solvates could be precipitated.

The B_1^- solvate precipitated only 47 percent of its organic matter while the B_1^+ solvate, which contained a higher proportion of sesquioxide and less silica, precipitated about 87 percent at the point of maximum (cf. fig. 40). In order to find out if the difference could be ascribed to the sesquioxide content we prepared a series with the B_1^- solvate to which we added so much Al that the acidoid/basoid ratio would be of the same order of magnitude as in the B_1^+ solvate:

Series 4. The aluminated B_1^- solvate:

3.25 cc $B_1^- = 20.74$ mg. C.

0.4 m. mol $AlNH_4(SO_4)_2 \doteq 20.4$ mg. Al_2O_3

x m.e. H_2SO_4 or y m.e. NaOH.

Water to make 50 cc.

(g. C/m. mol $M_2O_3 = 0.07$, $SiO_2/M_2O_3 = 0.17$).

The results are presented in figure 42 (curve $B_1^- + Al$) and show that the addition of the alumina caused an increase in the precipitation from 47 to 92.5 percent of the organic matter and that the maximum was deflected to a pH which coincides with that of the B_1^+ solvate. Thus the organic matter in the anionic solvates from the B horizon, not precipitated by acid, may be precipitated by the sesquioxides, at least to a very large extent if not completely.

Figure 42 contains a fourth curve which needs explanation. It is the curve marked $B_1^+ \rightarrow B_1^-$. The symbols signify that the cationic solvate B_1^+ was rendered anionic by one large addition of NaOH. The anionic solvate was then gradually acidified and the precipitation studied. It will be noted that the maximum precipitation and the position of this maximum is the same as in the case of the original B_1^+ solvate. The same was found to hold for the B_3^+ solvate. The process is strictly reversible.

The precipitation by Ca. ions.

Figure 43 gives the results obtained by precipitating the anionic solvates with $Ca(NO_3)_2$ at a pH slightly below 7. The percentage organic matter precipitated by a concentration of 320 m.e. Ca per liter (16 m.e. in 50 cc) was as follows:

$F_0 = 44.1$, $F_2 = 47.0$, $B_3 = 52.9$, $B_1 = 60.7$, $A_1 = 73.1$.

With the exception of F_2 the order is the same as in the case of the precipitation with H_2SO_4 . The differences in the amounts precipitated by Ca are, however, not so great, the Ca precipitating more of the F_0 and less of the A_1 organic matter

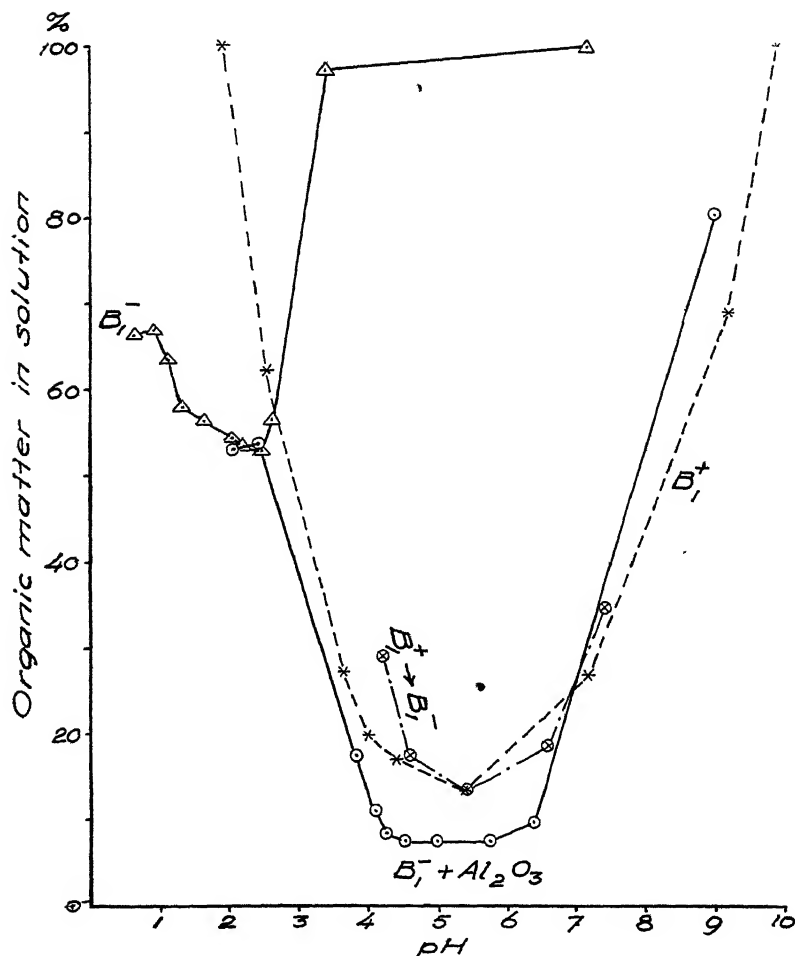


Fig. 42. The precipitation of the anionic B_1^- solvate after the addition of a small amount of Al, and the precipitation of the cationic B_1^+ solvate after making it anionic by the addition of alkali.

than did the H_2SO_4 . The humus acidoids are more completely precipitated by acids than the Ca humates are precipitated by Ca salts. This is reflected in the position of the F_2 and A_1 curves in figures 40 and 43. The low position of the F_0 curve in figure 43 is probably due to the formation of insoluble

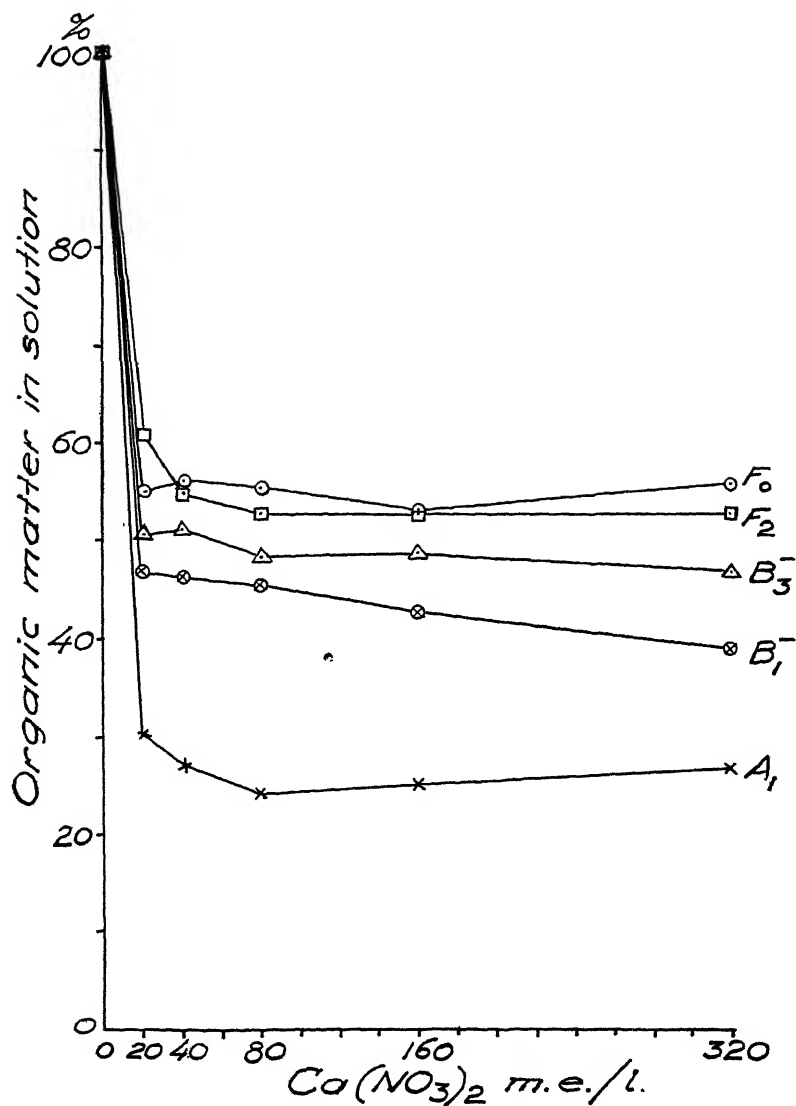
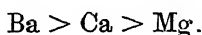


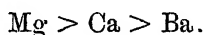
Fig. 48. The precipitation of the anionic solvates by the Ca ion.

Ca salts of the simple organic acids present in the F_0 solvate. The B solvates are evidently here, as in figure 40, not comparable with the solvates from the humus layer since the largely constitute humates of Al and Fe.

It should finally be added that Mg ions precipitate the humates less completely than Ca and the latter less completely than Ba. The power to precipitate humus is:



This is the reverse to the order of the power of these cations to precipitate silicic acid which is:



The dehydration and precipitation of Na-humates.

The anionic solvates from the A horizon consists principally of Na-humates. These are so readily solvated that the humus acidoid formed by the addition of acid cannot be precipitated until the major part of the humates are decomposed at low pH (cf. fig. 40). A small amount of Na-humate will peptise a large amount of humus acidoid. The Na-humate sol is so stable that it is only partially salted out by high concentrations of alkali salts. (It is apparently the most active humate which has the lowest equivalent weight which refuses to be salted out). This stability of the sol of Na-humate is not surprising if we consider that its equivalent weight may be as low as 236 (= 4.22 m.e. exchangeable cations per gram. Cf. table 19). This is lower than the equivalent weight of the higher fatty acids.

That the hydration of the humate ions constitutes the main stability factor is shown by the following experiment:

One part of the anionic solvates was added to four parts of alcohol (95 %) making a concentration of 80 percent by volume. The result was that F_0 was completely precipitated leaving a colorless supernatant liquid, F_2 precipitated but left a deep

yellowish brown supernatant liquid, A_1 was only partly precipitated whereas A_2 showed no visible change.

Now we knew that the F_0 solvate contained the highest concentration of soluble electrolytes and A_2 the least. Was the precipitation due to the electrolytes after the sol had been sensitized by the dehydration with alcohol? The answer is yes, and it was found as follows:

(1). The precipitate from F_0 was filtered off and solvated in one part of water. Upon the addition of four parts of alcohol there was now no sign of any precipitation.

(2). A little electrolyte (NaCl) was added to the A_2 solvate containing 80 percent alcohol. It precipitated at once. The most astonishing thing is that it was precipitated just as rapidly by NaOH in a concentration as low as n. 0.008.

This proves that the alkali humates are colloidal solutions which owe their stability to their highly hydrophilic character. The latter must be ascribed to a strong polarity resulting from the high degree of dissociation. Like the other emulsoids, they possess two factors of stability; charge and hydration. Both of these must be suppressed before the solvate can precipitate, the former by electrolytes and the latter by dehydrating agents.

It is hoped that many of the problems which have suggested themselves during our present work can be dealt with more fully in connection with two investigations now in progress; one on the acid/base condition in humifying materials in the laboratory and in nature, and the other on the ingo and outgo of various elements in the different soil horizon materials studied in laboratory lysimeters. We believe that progress in the humus problem would be more rapid if the methods of electro-colloid chemistry were more generally applied. Recent developments in the chemistry of the proteins and carbohydrates are good examples.

Summary.

The laws governing the isoelectric precipitation of the humates of Al and Fe have been reviewed (cf. fig. 33).

The acid/base condition as affected by humus has been studied in a podzol profile (cf. fig. 34, 35, 36), the acids, acidoids and bases being determined in each horizon.

The anionic and cationic solvation of humus and aluminum and ferric and ferrous iron has been studied (cf. fig. 37, 38, 39).

The anionic and cationic solvates, obtained by extracting the materials from the various horizons, have been studied with respect to composition and properties such as base exchange, and precipitation by acid and base (fig. 40), by protein and sesquioxides (fig. 41, 42); by calcium ions (fig. 43) and, after dehydration with alcohol, by sodium ions.

On the basis of the pedogenic properties the humus acidoids may be divided into the following fractions:

- A. Acid-precipitated, sesquioxide-precipitated.
- B. Acid-soluble, sesquioxide-precipitated.
- C. Acid-soluble, sesquioxide-soluble.

In a leached and acid soil the A-fraction accumulates in the A-horizon and the B-fraction accumulates in the B-horizon whereas the C-fraction is removed by leaching.

The acidoid properties are possessed by the living plant material as well as by humus. The capacity to bind base is lowest in the living vegetation and increases in the litter and in the amorphous humus with age and transformation (cf. fig. 35). This is also true of the extracted and precipitated humus acidoids (cf. table 21).

Sammanfattning.

Inledningsvis redogöres för de lagbundenheter, som bestämma den isoelektriska utfällningen av de amfotära humaterna. (Jämf. tabellerna 13, 14, 15 samt fig. 33).

Syra/basförhållandet i en podsolprofils olika horisonter har undersökts i samband med humushalten. De elektrodialyserbara baserna och syrorna har bestämts genom titrering och den elektrodialyserade jordens halt av acidoider har mätts medelst elektrometrisk titrering. (Jämf. tabellerna 16, 17, 18 samt fig. 34, 35, 36.)

Den anioniska och kationiska solvationen av humus samt av aluminium och två- och trevärdigt järn har undersökts i såväl jord som i syntetiska system av råhumus och järn och aluminiumsalter. (Jämf. fig. 37, 38, 39.)

De anioniska och kationiska solvaten som erhållits genom extraktion av jordmaterialet från de olika horisonterna i resp. svagt alkalisk och sur lösning har undersökts med hänsyn till sammansättning och egenskaper. (Jämf. tabell 19.)

De olika solvaten har undersökts med hänsyn till stabilitet och utfällningsområde (pH) under tillsats av syra och bas, av kalcium, järn och aluminiumsalter, av äggvita samt, efter dehydrering med alkohol, av natriumklorid och -hydroxid. (Jämf. fig. 40, 41, 42, 43.)

På grundval av de pedogena egenskaperna kan man indela humus-acidoiderna i fraktioner enligt följande schema:

- A. — Syrafällbar, seskvioxidfällbar.
- B. — Syralöslig, seskvioxidfällbar.
- C. — Syralöslig, seskvioxidlöslig.

I en utlakad sur jord sker en anrikning av A-fraktionen i A-horizonten och av B-fraktionen i B-horizonten medan C-fraktionen utlakas med grundvattnet.

Det levande växtmaterialet besitter acidoida egenskaper såväl som humusen. Den basbindande kapaciteten är lägst i det levande växtmaterialet och stiger i förnan och i de amorfa humusämnen med dessas ålder och förvandling (fig. 35). Detta är också förhållandet i de extraherade och utfällda humus-acidoiderna. (Jämf. tabell 20.)

References.

- ARNOLD, C. W. and PAGE, H. J., 1930. The extraction of the organic matter of the soil with alkali. — *J. Agr. Sci.* vol. 20, p. 460—477.
- CROWTHER, E. M., 1935. First report of the organic carbon committee. — *Trans. Third Intern. Congr. Soil Sci.* vol. I, p. 114—127.
- DE RIETZ, C., 1934. Über die Bedeutung der Ausführungsweise der KCl-Ableitung by der pH-Bestimmung von Suspensionen. — *Sv. Kem. Tidskr. ärg.* 46, p. 136—139.
- MATTSON, S., The laws of soil colloidal behavior:
1931 IV. Isoelectric precipitates. — *Soil Sci.* vol. 31, p. 57—77.
1933 XI. Electrodialysis in relation to soil processes. — *Soil Sci.* vol. 36, p. 149—163.
- MATTSON, S. & NILSSON, I., 1935. The chemical characteristics of soil profiles: III. The podzol complex. — *Lantbr.-högsk:s Annaler*, vol. 2, p. 115—134.
- MATTSON S. & GUSTAFSSON, Y., 1935. The neutral salt reaction in relation to the point of exchange neutrality. — *Lantbr.-högsk:s Annaler*, vol. 2, p. 135—157.
- & —, 1937. The electro-chemistry of soil formation:
I. The gel and the sol complex. — *Lantbr.-högsk:s annaler*. vol. 4, p. 1—54.
- MATTSON, S. & KARLSSON, N., 1938. The electro-chemistry of soil formation: II. The phosphate complex. — *Lantbr.-högsk:s Annaler*, vol. 6, p. 109—157.
- MATTSON, S. & HOU, K. C., 1937. The laws of soil colloidal behavior: XX. The neutral salt effect and the amphoteric points of soils. — *Soil Sci.* vol. 44, p. 151—166.
- ODÉN, S., 1919. Die Huminsäuren. — *Kolloidchem. Beih.*, Bd 11, p. 75—260.
- REMEZOW, N. P., 1937. To the theory of the podzolizing process. — *Pedology* 32, p. 1139—1159.
- RODE, A. A., 1938. Some remarks concerning the recent works of S. Mattson. — *Pedology* 33, p. 595—606.
- SCHMUZIGER, A., 1935. Über die Verteilung und den Chemismus der Humusstoffe in den Profilen einiger schweizerischer Bodentypen. Promotionsarb. Tech. Hochschule in Zürich.
- WAKSMAN, S., 1926. The origin and nature of the soil organic matter or soil »humus». — *Soil Sci.* vol. 22, pp. 123, 221, 323, 421.

To what extent can cellulose-decomposing microorganisms utilize the protein nitrogen in stable manure?

By CHR. BARTHEL and N. BENGTTSSON.

From the Institute of Microbiology.

Our earlier investigations of nitrification of stable manure in soil have shown very distinctly that under the conditions used the protein nitrogen in stable manure is mineralized very slowly (BARTHEL 1917; BARTHEL & BENGTTSSON 1918, 1920, 1924, 1926, 1930, 1931 *a*, 1931 *b*, 1934; BENGTTSSON 1932; BENGTTSSON & BARTHEL 1935). We have now made an experiment in order to determine to what extent cellulose-decomposing microorganisms can utilize this nitrogen. It is known that these microorganisms in their active stage consume rather considerable amounts of assimilable nitrogen (CHARPENTIER 1921; BARTHEL & BENGTTSSON 1923; WAKSMAN & HEUKELEKIAN 1924; ANDERSON 1925). It is, therefore, to be expected that they would be forced, in the absence of assimilable nitrogen, to attack and decompose the manure proteins. As a matter of fact, in an earlier investigation where the cellulose decomposition process was studied with a soil to which filter paper and stable manure or inorganic nitrogen compounds had been added, we found no indication that the microorganisms in question are able to utilize the complex nitrogen of manure (BARTHEL & BENGTTSSON 1923). In this study, however, both the soil itself and the manure used contained rather considerable amounts of assimilable nitrogen, and for that reason it was hardly to be expected

that the manure proteins would be attacked during the short duration of the experiment (4 months). We therefore considered it necessary to repeat the experiments, using a sand poor in nitrogen and a manure from which most of the ammonia had been driven off.

To the sand used, which had first been washed with water and dried, 0.045 per cent KH_2PO_4 was added. It then contained 14.4 mg. total nitrogen and 0.0 mg. soluble nitrogen per kilogram; its pH value was 7.0,

The manure, dried at 55°C . and ground, was taken from a portion of a pure cow dung, two weeks old and containing principally rye straw and some peat as beddings. It may be mentioned that a part of this dried manure was used in a study of nitrification with sand, which has already been published (BENGTSSON & BARTHEL 1935). The analytical data are repeated here:

Dry matter (Torrsubstans)	95.65 %
Ash (Aska)	13.17 »
Total nitrogen (Totalkväve)	1.81 »
Soluble nitrogen (Lösligt kväve) ¹	0.08 »
Ammonia nitrogen (Ammoniakkväve)	0.08 »
Organic carbon (Organiskt kol)	40.43 »
C : N	22.3 ».

A finely-ground sample of filter paper (Munktell's filter paper No. 10), containing 92.9 per cent cellulose, was used as a cellulose source for the microorganisms.

Cellulose-decomposing microorganisms (and others) were added in the form of a filtered water-extract of a garden soil (pH 7.3). This extract contained 0.13 mg. nitrate nitrogen and 0.18 mg total nitrogen per 100 ml.

Each sample was made up to contain 890 g. sand, 10 g. filter paper, 10 ml. soil extract and in addition:

Sample I 4.5 g. dried manure (torkad gödsel).

» II 0.74 g. meat meal (köttmjöl).

¹ Determined according to the method of Glathe (GLATHE 1927).

Sample III 3.6 mg. nitrogen as ammonium sulphate (ammoniumsulfatkväve).

» IV No addition (ingen tillsats).

The water content was adjusted to 10.9 per cent. All samples were made in duplicate (a and b). After thorough mixing, the samples were put into 1 000 ml. glass jars which were stoppered with corks. Each cork was provided with a short glass tube plugged with cotton. By means of this simple arrangement, which we have used for many years, it is possible to maintain aerobic conditions and markedly reduce the evaporation. The jars were weighed and incubated at 20—22° C. When necessary, water was added to replace losses by evaporation.

The chief sample (sample I) contained 4.5 g. manure and 890 g. sand. These amounts were taken in order to keep the same ratio between the manure and the sand that was used in the nitrification investigation mentioned above (BENGTSSON & BARTHEL 1935). According to the analysis this quantity of manure contained 81.5 mg. total nitrogen and 3.6 mg. soluble nitrogen. The composition of the control samples II and III were made to correspond to these figures in that the manure was replaced by 0.74 g. meat meal containing 81.1 mg. total nitrogen, and by 3.6 mg. ammonium sulphate nitrogen, respectively. From an earlier experiment we knew that the proteins in meat meal are decomposed by microorganisms very rapidly (BARTHEL & BENGTSSON 1934). Thus, the meat meal must be considered a satisfactory standard when estimating the value of the manure proteins as a source of nitrogen for the cellulose-decomposing microorganisms. Sample III was included in order to establish the maximal effect that might be ascribed to the soluble nitrogen compounds in the manure. The purpose of sample IV was to permit accounting for the corresponding effect arising from the nitrogen compounds in the sand and the soil extract.

After $\frac{1}{2}$, 1, 2 and 4 years, determinations of cellulose and pH were made in aliquot samples, and for the last two inter-

vals, ammonia and nitrate nitrogen were also determined. The cellulose was determined according to Charpentier's method (CHARPENTIER 1920; BARTHEL & BENGTSSON 1923), the pH by the quinhydrone method, and ammonia and nitrate nitrogen by a successive procedure recently described (BENGTSSON 1936). The results, which are presented in tables 1 and 2, show the following:

In sample II, to which meat meal in an amount equivalent to the total nitrogen in the manure had been added, more than 80 per cent of the paper cellulose was decomposed after $\frac{1}{2}$ year, and after 2 years the decomposition was complete. In accordance with this, at the time of the next analysis (after 4 years) sample II showed a rather high content of nitrate nitrogen, while the other samples were free from such nitrogen in all instances. In the chief sample (sample I), which contained manure, only about 25 per cent of the paper cellulose was decomposed after $\frac{1}{2}$ year; during the following $1\frac{1}{2}$ years the cellulose decomposition process was dormant, but then it started again, and at the end of the experiment about one third of the added cellulose had been decomposed. Thus, a comparison between the effects of the manure and of the meat meal shows that manure proteins are not a satisfactory source of nitrogen for the cellulose-decomposing microorganisms. However, beyond doubt a part of the protein nitrogen in the manure was utilized by these microorganisms. This is clear from the cellulose values of sample III, which show the total effects of the nitrogen content of the sand and the soil extract and of an amount of ammonium sulphate equivalent to the soluble nitrogen compounds in the manure. All the values of decomposed cellulose found for this sample are decidedly lower than those found for the sample with manure (sample I) at the corresponding times.

It may be of interest to determine if the decomposition of the manure proteins proceeded more rapidly in this instance than it would have done in a corresponding sample without addition of cellulose. The procedure used here can not alone

Table 1.

Cellulose recovered in mg. per 100 g. and per cent cellulose decomposed. (mg cellulosa funnet per 100 g prov och procent sönderdelad cellulosa.)

Samples (Prov)	0 year (år) mg	1/2 year		1 year		2 years		4 years	
		mg	%	mg	%	mg	%	mg	%
I a	916	705	23	675	26	676	26	602	34
I b	"	690	25	685	25	711	22	619	32
II a	920	151	84	27	97	0	100	0	100
II b	"	166	82	110	88	16	98	0	100
III a	"	808	12	785	15	838	9	830	10
III b	"	864	6	800	13	818	11	831	10
IV a	"	868	6	888	3	891	3	882	4
IV b	"	882	4	908	1	869	6	891	3

Table 2.

pH and mg. ammonia N and nitrate N per 100 g. (pH och mg ammoniak- och salpeter-N per 100 g prov.)

Samples (Prov)	1/2 year (år) pH	1 year pH	2 years			4 years		
			pH	ammonia-N	nitrate-N	pH	ammonia-N	nitrate-N
I a	7.0	7.4	7.4	0.3	0.0	7.6	0.1	0.0
I b	7.1	7.4	7.5	0.3	0.0	7.6	0.1	0.0
II a	7.0	7.2	7.4	0.7	0.1	7.4	0.2	2.1
II b	6.9	7.4	7.4	0.2	0.0	7.6	0.1	1.3
III a	7.2	7.5	7.4	0.1	0.0	7.7	0.1	0.0
III b	7.2	7.5	7.6	0.2	0.0	7.8	0.0	0.0
IV a	7.5	7.7	7.5	0.1	0.0	7.8	0.1	0.0
IV b	7.5	7.6	7.6	0.1	0.0	7.8	0.1	0.0

elucidate this question. We are obliged to recall the results of the nitrification investigation with the same manure (BENGTSSON & BARTHEL 1935). In one of the series of that investigation, which was carried out with sand taken from the

same place as that used in the present study, 0, 0, 0 and 24 per cent of the protein nitrogen of the manure had been nitrified after $\frac{1}{2}$, 1, 2 and 4 years, respectively. In all probability no appreciable amounts of ammonia nitrogen could have been found during the course of the experiment. For that reason the nitrification figures given above may represent very nearly how large a part of the protein nitrogen was assimilable at the respective times. The pH values were 7.8, 7.6, 7.6 and 8.0, respectively, *i. e.*, somewhat higher than those of the present sample I at the corresponding times (table 2). The results of the cellulose decomposition experiment together with those of the nitrification experiment allow the following conclusions. During the first interval of the experiment (0— $\frac{1}{2}$ year) a rather small but quite distinct part of the protein nitrogen in the manure was utilized by the cellulose-decomposing microorganisms. In the nitrification experiment no trace of such a decomposition of the manure proteins could be discovered after 6 months. During the following 1 $\frac{1}{2}$ years the cellulose decomposition process was quite dormant, indicating that no further protein nitrogen in the manure was mobilized. Nor did the nitrification experiment reveal any decomposition of the manure proteins for the interval $\frac{1}{2}$ —2 years. Finally, during the last two years 24 per cent of the protein nitrogen was decomposed in the nitrification experiment. During this time the process of cellulose decomposition had certainly started again, but the results for decomposed cellulose found after 4 years are far lower than might be expected in view of the amount of assimilable nitrogen that, according to the nitrification experiment, was available to the cellulose-decomposing microorganisms. This non-correspondence is most probably connected with the fact that the larger part of the protein decomposition found occurred during the 4th year, for a supplementary determination showed that after 3 years only 7 per cent of the protein nitrogen was decomposed in the nitrification experiment.

Summary.

An investigation has been made in order to determine to what extent cellulose-decomposing microorganisms can utilize the protein nitrogen in stable manure. The manure used had been dried at 55° C. and, accordingly, its content of ammonia was rather small. Manure and filter paper were added to sand poor in nitrogen (pH 7.0). The sample was inoculated with a water-extract of a garden soil (pH 7.3) and the water content adjusted to 10.9 per cent. The temperature of the experiments was 20—22° C. Cellulose determinations were made after 1/2, 1, 2 and 4 years. Simultaneously, the effects of the nitrogen compounds in the sand and the soil extract and of an amount of ammonium sulphate equivalent to the soluble nitrogen compounds in the manure were studied with reference to the cellulose decomposition. As a standard for measuring the value of the manure proteins as a source of nitrogen for the cellulose-decomposing microorganisms, meat meal was used. The results of these cellulose decomposition experiments were compared with those from a recent nitrification experiment with sand and the same dried manure (BENGTSSON & BARTHEL 1935).

The following results were obtained:

During the first interval of the experiment (0—1/2 year) a rather small part of the protein nitrogen in the manure was utilized by the cellulose-decomposing microorganisms. Obviously, these microorganisms were able to attack and utilize the part of the protein nitrogen that was rather loosely fixed. During the following 1 1/2 years the process of cellulose decomposition was dormant. Finally, during the last two years of the experiment this process started again. However, the results for decomposed cellulose found at the end of the experiment were much lower than might be expected from the results of the nitrification experiment relating to the mobilization of the protein nitrogen in the manure. The control sample with meat meal also showed that the proteins in the manure

were a very unsatisfactory source of nitrogen for the cellulose-decomposing microorganisms. Thus, the great immobility of the complex nitrogen in stable manure earlier found in nitrification experiments has, in general, been confirmed by the investigation here reported.

Sammanfattning.

(Redogörelsens titel: *I vad mån kunna cellulosasönderdelande mikroorganismer utnyttja stallgödselns proteinkväve?*)

Våra resultat från en lång serie av undersökningar angående stallgödselkvävet nitrifikation i åkerjorden ha mycket tydligt fastslagit, att stallgödselns proteinkväve endast mycket långsamt mineraliseras. Vi ha nu utfört ett försök för att se, i vad mån cellulosasönderdelande mikroorganismer förmå utnyttja detta kväve. Om dessa vet man, att de för sin verksamhet ha ett mycket utpräglat behov av assimilerbart kväve. Det kunde därför tänkas, att de, om de så att säga sattes på svältkur med avseende på dylikt kväve, skulle tvingas attackera och sönderdela gödselns proteinämnen.

Försöket utfördes i sand från ett sandtag, vilken efter tvättning med vatten, varigenom alla lösliga kväveföreningar avlägsnades, hade torkats och försatts med 0,045 % KH_2PO_4 . Kvävehalten var 0,0014 % och pH-värdet 7,0. Den gödsel, som kom till användning, togs från ett torkat och malt parti av en 2 veckor gammal ren kogödsel, vari huvudsakligen råghalm men även något torvströ ingick som strömedel. Analysdata för gödseln i fråga äro meddelade å s. 122. Som cellulosa-källa för de cellulosasönderdelande mikroorganismerna användes finmalt filterpapper, hållande 92,9 % cellulosa. För ympning togs ett filtrerat vattenextrakt av en trädgårdsjord (pH 7,8), vilket pr 100 ml höll 0,18 mg salpeterkväve och 0,18 mg totalkväve. Försökets huvudprov (prov I) innehöll 890 g sand, 4,5 g gödsel, 10 g filterpapper, 10 ml jordextrakt och så mycket vatten, att halten därav utgjorde 10,9 %. Försöks-

temperaturen var 20—22°. Efter $\frac{1}{2}$, 1, 2 och 4 år gjordes bestämningar på cellulosa och pH. Vid de två sista tidpunkterna bestämdes även halten av ammoniak- och salpeterkväve. I kontrollprov utan gödsel studerades samtidigt verkan av sandens och ympsatsens kväveinnehåll (prov IV) samt av en med gödselns halt av vattenlösliga kväveföreningar ekvivalent mängd ammoniumsulfat (prov III). Som standard för bedömningen av gödselproteinernas värde som kvävekälla för de cellulosasönderdelande mikroorganismerna användes köttmjöl (prov II), som togs i en mängd, svarande mot gödselns halt av totalkväve. Resultaten vid detta cellulosasönderdelningsförsök (tab. 1 och 2) sammanställdes med dem, som framkommit vid ett tidigare utfört nitrifikationsförsök med samma torkade gödsel, vilket gjordes i sand av samma ursprung som den här använda (BENGTSSON & BARTHEL 1935).

De huvudsakliga resultaten blevo:

Under försökets allra första del (0— $\frac{1}{2}$ år) utnyttjade de cellulosasönderdelande mikroorganismerna en ringa, men fullt påtaglig mängd av gödselns proteinkväve. Tydligen voro dessa mikroorganismer i stånd att angripa och assimilera den del av proteinkvävet, vars bindning var av mindre komplex natur. Under de följande $1\frac{1}{2}$ åren stod cellulosasönderdelningsprocessen alldeles stilla i provet med gödsel, således angivande, att under denna tid intet ytterligare proteinkväve assimilerats av mikroorganismerna i fråga. Därefter trädde de åter i verksamhet i detta prov, men den vid försökets slut (efter 4 år) funna mängden sönderdelad cellulosa var långt mindre än man kunde väntat med hänsyn till att vid nitrifikationsförsöket med samma gödsel 24 % av proteinkvävet var mineraliserat efter 4 år. Även av kontrollprovet med köttmjöl, vari den tillsatta papperscellulosan var fullständigt sönderdelad efter 2 år, framgick, att gödselns proteinämnen utgjorde en mycket dålig kvävekälla för de cellulosasönderdelande mikroorganismerna. Den tidigare vid nitrifikationsförsök konstaterade stora immobiliteten av stallgödselns komplext bundna kväve har således bestyrkts genom det här relaterade försöket.

References.

- ANDERSON, J. ARLINGTON, 1925. Inverkan av lättlösliga kväveforeningar på cellulosasonderdelningen i åkerjorden. Medd. nr 291 fr. Centralanst. f. försöksv. på jordbruksomr.
- BARTHEL, CHR., 1917. Bidrag till frågan om stallgödselkvävet's nitrifikation i åkerjorden. I. Medd. nr 150 fr. Centralanst. f. försöksv. på jordbruksomr.
- BARTHEL, CHR. & BENGTSSON, N. Bidrag till frågan om stallgödselkvävet's nitrifikation i åkerjorden.
- | | | |
|---------|-------|--|
| 1918. | II. | Medd. nr 172 fr. Centralanst. f. försöksv. på jordbr.-omr. |
| 1920. | III. | 211 |
| 1924. | IV. | 269 |
| 1926. | V. | 311 |
| 1930. | VI. | 382 |
| 1931 a. | VII. | 396 |
| 1931 b. | VIII. | 400 |
| 1934. | X. | 442 |
- BARTHEL, CHR. & BENGTSSON, N., 1923. Bidrag till frågan om stallgödselns verkningsätt vid cellulosasonderdelningen i åkerjord. Medd. nr 248 fr. Centralanst. f. försöksv. på jordbruksomr.
- BENGTSSON, N., 1932. Bidrag till frågan om stallgödselkvävet's nitrifikation i åkerjorden. IX. Medd. nr. 415 fr. Centralanst. f. försöksv. på jordbruksomr.
- , 1936. Sonderdelning av cellulosa, pentosaner och lignin i jord. Lantbrukshögsk:s annaler, vol. 3, s. 1.
- BENGTSSON, N. & BARTHEL, CHR., 1935. Bidrag till frågan om stallgödselkvävet's nitrifikation i åkerjorden. XI. Medd. nr 454 fr. Centralanst. f. försöksv. på jordbruksomr.
- CHARPENTIER, C. A. G., 1920. Kvantitativ bestämning av jordars cellulosasonderdelande förmåga. Medd. nr 205 fr. Centralanst. f. försöksv. på jordbruksomr.
- , 1921. Studier över stallgödselns inverkan på cellulosa's sonderdelning i åkerjord. Medd. nr 218 fr. Centralanst. f. försöksv. på jordbruksomr.
- GLATHE, H., 1927. Die Heissvergärung des Stallmistes nach H. Krantz. Diss. Leipzig.
- WAKSMAN, S. A. & HEUKELEKIAN, O., 1924. Microbiological analysis of soil as an index of soil fertility: VIII. Decomposition of cellulose. Soil Science, vol. 17, p. 275.

The Metabolic Behaviour of Phosphorus.

Balance Sheets of Phosphorus in Full-grown Rats Fed with Tri-stearine and Ammonium Phosphate.

By A. WESTERLUND.

From the Physiological Institute.

Much work has already been done on the metabolic behaviour of phosphorus in the animal body. Numerous balance sheets of this element in different species and in different chemical compounds are given in the literature. They cannot be reviewed here. Nevertheless, continued research is necessary to formulate general rules for the metabolism of the element in question. Especially such investigations as deal with phosphorus from different sources, e. g. from various food-stuffs, are not so frequent. Furthermore, the bulk of recent work on phosphorus metabolism is mainly directed towards the conditions in young growing animals, for instance the extensive literature dealing with rhachitidogenic diets.

The present investigation takes up the problem from a somewhat special point of view. It deals only with adult animals living under quite special conditions. The leading feature of these is that the animals should be in a state of calcium starvation, i. e. they should receive such restricted amounts of calcium with the food that the loss of this element with the intestinal excreta should exceed the intake. This negative calcium balance should be still more accentuated by giving the animals a kind of fat which augments the fecal

loss of calcium. For this purpose pure tri-stearine was chosen. Finally, all such components should be absent from the experimental diets as are suspected to decrease the demand of calcium. Therefore, the diets should lack vitamin D (cf. NICOLAYSEN 1937).

The source of phosphorus used in the present investigation was ammonium phosphate ($(\text{H}_4\text{N})_2\text{HPO}_4$) delivered from Kahlbaum in Berlin. The author aims at extending the investigation by using other sources of phosphorus also, in particular some common food-stuffs. Among them, milk attracts special attention in comparison with bread, for instance. Certain of these additional investigations are on record.

In addition to a presentation of complete balance sheets for phosphorus at different levels of intake, and of calcium as well, the present investigation intends to gain information as to the factors which control the elimination of phosphorus (and calcium) with the solid and liquid excreta.

The experimental animals were seven male albino rats of varying body weight but surely practically full-grown. They are referred to in the following by Arabic numerals. Among them, five, i. e. Nos. 3—7, belonged to our own colony. They had received our stock food since the weaning. The remaining two were purchased, but had been kept in our *murarium* for some weeks prior to the experiment so that they may be considered well accustomed to the stock food. The body weights of the animals are given in Tab. 1.

Tab. 1.

The body weights of the animals (kg).

1	2	3	4	5	6	7
.185	.216	.304	.225	.241	.212	.345
.180	.216	.297	.228	.241	.212	.330
.180	.211	.289	.225	.242	.210	.320
.169	.213	.293	.220	.236	.208	.322
.170	.217	.290	.221	.237	.209	.312
.177	.215	.295	.224	.239	.210	.326

The bottom line gives the means.

The experimental period covered 10 days, the first 5 of which formed a preparatory part intended to accustom the rats to the experimental diets, and during which the food intake was recorded and adjusted. The actual test period, during which the excreta were collected as well, began with the 6th day and lasted 5 days. During the whole experimental period the animals were kept in metabolic cages of our own pattern (1929), the frame consisting of aluminium, the sides of wire net, and the floor of parallel glass tubes, resting on a pyramid-shaped funnel of tinned copper. The separation of solid and liquid excreta was effectuated by a cone of silver grating through which the urine could flow and from which the fecal boli rebounded. The daily weighings were carried out with the animal enclosed in the cage.

Before the experimental period, the rats were kept in a basement room, in a large common cage with plenty of wood-wool which was changed frequently. The stock food was the same as in a previous experiment (1934), mainly consisting of crushed wheat, skim milk cheese, and carrots. The components were separate and accessible *ad libitum*. Its content of vitamin D was probably very small.

The experimental diets. The basal food had the following composition:

hemp-seed edestin	14	parts,
rice starch	58	»
paper pulp	17	»
tri-stearine	9	»
salt mixture	2	»

In comparison with basal foods previously used in this laboratory, the present one contained about 3 times more paper pulp. This increase had been made in order to guarantee the fecal boli a suitable consistency, especially in the case of the large phosphorus ingestions. The paper pulp was washed with hydrochloric acid and distilled water in order to reduce the

content of calcium. The salt mixture was the same as in previous experiments, but the calcium phosphate had been excluded.

Regarding the preparation of the experimental food-mixtures the following is to be noticed. The components enumerated above, except the fat, were pulverized and weighed out in an air-dry condition. About a fourth of the starch was gelatinized with hot water in order to give the ready-made food-boli a sufficient coherency. The remaining components were mixed, soaked with tepid water to a dough, and formed in small pieces. After drying, these were ground to a fine powder, into which the following components were incorporated: the gelatinized starch, the fat, different quantities of ammonium phosphate, a constant amount of suction-filtered brewery yeast previously stirred up in a small quantity of hot water, and finally, 1,00 g of citric acid. The mixture was soaked up with tepid water to a paste of suitable consistency and kneaded thoroughly. The resulting mass, moist but not sticky, was weighed, formed to boli of convenient size and stored hermetically in a refrigerator. A weighed quantity of these food-boli were offered to the animals thrice daily, placed directly upon the bottom of the cage. The risk that minute pieces from them should be dropped and slip through the grating of the urinary separator was next to none. The moisture of the food-boli was determined daily.

It follows from this method of preparation that losses of food-ingredients could not be avoided. The existence of such losses becomes obvious from differences in the total weight of the individual food-mixtures actually recorded. Therefore, variations in the composition *between* the food-mixtures are to be expected. Furthermore, the homogeneity *within* the ready-made food-mass may leave something to be desired.

In addition to the presence of tri-stearine, the experimental diets are characterized by their complete lack of vitamins A and D.

The methods of chemical analyses were essentially the same as in previous investigations from this laboratory. Objects of direct analysis were in the present investigation the following elements: Ca, Mg, K, Na, P, S, Cl. Only the contents of Ca and P are referred to in the following discussion. The percentages of the other elements analysed show a highly significant covariation with the percentages of Ca. The percentages of fat were obtained by calculation, on the basis of the dry weight of the food-mixtures and the weighed quantity of the fat. Consequently, the accuracy of the data for the consumption of tri-stearine is less than in the case of direct determination.

Controls of the Chemical Analyses.

As the present investigation intends to determine several quantitative relations, it was considered useful to test the results of the chemical analyses by a series of controls. The different experimental diets are referred to in the following by Roman numerals, in such a way that the diet of rat 1 is called »food-mixture I», the diet of rat 2 »food-mixture II» etc. In most cases, the components of the different food-mixtures came from a large supply procured at the beginning of the experiments. The starch and the yeast represent exceptions, the former originating from a special batch in food-mixtures I and II, the latter being delivered fresh for every separate mixture.

Tab. 2.

The percentages of Ca.

Food-mixtures	I	II	III	IV	V	VI	VII
Phosphate added, g	1.000	2.000	.501	.000	1.502	1.001	4.000
Dry weight, g	319	320	326	327	322	323	298
Ca-percentages	.0162	.0163	.0215	.0194	.0208	.0216	.0239
	.0161	.0164	.0215	.0199	.0200	.0211	.0231
	.0167	.0166					
Means	.01633	.01660	.02150	.01965	.02040	.02135	.02350

We begin with the controls of Ca. The analyses obtained for this element, reduced to a dry basis, are given in Tab. 2, which shows the phosphate additions and the dry weights also. Tab. 2 indicates that the triple analyses for food-mixtures I and II have come out with lower values than the double analyses for the remaining mixtures. The difference between the means is highly significant, for — on a basis of per ten thousand and using R. A. FISHER's (1930) notations — the following relations exist:

$$s^2(1/6 + 1/10) = .003449,$$

$$n = 14$$

$$t = 26; t_{\min.} = 3.$$

On the other hand, an analysis of variance relating to the Ca values in food-mixtures III—VII indicates that the variation in Ca percentages between the mixtures is considerably wider than within them, as is shown in Tab. 3.

Tab. 3.

Analysis of variance of the Ca percentages in food-mixtures Nos. III—VII.

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	S. D.	log. nat. 100 S. D.
within the mixtures	5	.00890	.001780	.0422	1.44
between the mixtures	4	.16826	.042065	.6497	4.17
total	9	.17716		$z = 2.73$ $z_{\min.} = .82$	

In fact, the difference is highly significant. This considerable discrepancy between the inter-class and intra-class variations was hardly expected. A possible explanation is that the salt mixture and phosphate preparation used contained accidental impurities of Ca. If this is the case, we may expect the Ca analyses to show a negative covariation with the corresponding dry weights of the food-mixtures, and

a positive covariation with the addition of phosphate. A direct calculation of the regression coefficients strengthens the assumption. If the Ca analyses are adjusted by regression to a weight of 319 g and to an addition of phosphate of 1.401 g by using the regression coefficients obtained, we get the figures in Tab. 4.

Tab. 4.

Ca percentages in food-mixtures Nos. III—VII adjusted by regression to a dry weight of 319.2 g and a phosphate addition of 1.4008 g.

III	IV	V	VI	VII
.0222	.0203	.0210	.0220	.0217
.0222	.0208	.0202	.0215	.0209

If this new set of computed Ca analyses is put through an analysis of variance, the discrepancy between the inter-class and intra-class variations comes out much smaller than before, the difference (z) taking the value of .88. But this diminution cannot be considered sufficient, as the corresponding probability is still too high, the value of z not being permitted to exceed .82. The remaining inconsistency, therefore, may depend on unrecorded dissimilarities in the preparation of the food-mixtures.

Tab. 5.

P percentages in food-mixtures Nos. I and II.

Food mixtures	I	II
Phosphate added, g	1.00	2.00
Dry weight, g	319	320
P-percentages	.1161 .1114 .1114	.1882 .1891 .1908
Means	.11297	.18937

The next control relates to P. First, the analyses for food-mixtures I and II are given (Tab. 5). If the P percentages in a phosphate-free mixture of the same composition is extrapolated, we get .0366 per cent. The P contents coming from

the addition of phosphate are thus $(.1130 - .0366 =) .076$ and $(.1894 - .0366 =) .153$ per cent, respectively. Supposing the P content in the phosphate preparation to be 23.45 g in 100 g, the absolute quantities of P which come from the additions of ammonium phosphate amount to .2345 och .4690 g, resp., and their P percentages

in food-mixture I074,
in food-mixture II15 .

These values agree fairly well with those obtained by direct chemical analysis and extrapolation.

The P percentages of the remaining 5 food-mixtures are found in Tab. 6. The bottom line gives the values which

Tab. 6.

P percentages in food-mixtures Nos. III—VII.

Food mixtures	III	IV	V	VI	VII
Phosphate added, g	.501	.000	1.502	1.001	4.000
Dry weight, g	326	327	322	323	298
P-percentages	.0614	.0252	.1328	.0897	.2986
	.0616	.0262	.1324	.0935	.3080
	.0598	.0251	.1323	.0941	.3243
Means	.06093	.02550	.13250	.09243	.31030
Means adjusted by regression	.05935	.02348	.13125	.09538	.31220

have been adjusted by regression, using the weights and the phosphate additions as argument variates. The next table (Tab. 7) gives the P percentages in the same food-mixtures,

Tab. 7.

P percentages adjusted by regression to a dry weight of 319.2 g and a phosphate addition of 1.4008.

III	IV	V	VI	VII
.1264	.1261	.1259	.1186	.1107
.1266	.1271	.1255	.1224	.1201
.1248	.1260	.1254	.1230	.1364
.12593	.12640	.12560	.12133	.12240

but now adjusted to a common weight and to the same addition of phosphate. The pertaining analysis of variance suggests that the variation between the food-mixtures cannot be considered significantly wider than within them, but this result seems to depend upon the considerable intra-class variation in food-mixture VII only. For, if its values are excluded from the analysis of variance, the inter-class variation comes out significantly wider than the intra-class variation. Therefore, just as in the case of Ca, there must have been unrecorded differences in the preparation of the 5 food-mixtures in question.

The second control consists in a comparison between the P percentages calculated as above and those obtained by direct chemical analysis. The first link, i. e. the calculation, is given in Tab. 8. The second link is shown in Tab. 9. The values

Tab. 8.

P percentages computed directly from the dry weights of the food-mixtures and the phosphate additions.

Food mixture	Phosphorus added g	Phosphate Phosphorus per cent.
IV	.0000	—
III	.1173	.036
VI	.2345	.073
V	.3518	.109
VII	.9380	.315

Tab. 9.

P percentages adjusted by regression and obtained by chemical analysis.

Adjusted by regression		Obtained by analysis	
Total P	Phosphate P	Total P	Phosphate P
.0235	—	.0255	—
.0594	.036	.0609	.035
.0954	.072	.0924	.067
.1313	.108	.1325	.107
.3122	.289	.3103	.285

in the second and fourth columns were obtained by subtracting the value for mixture IV, to which no phosphate had been added, from the other values of total P.

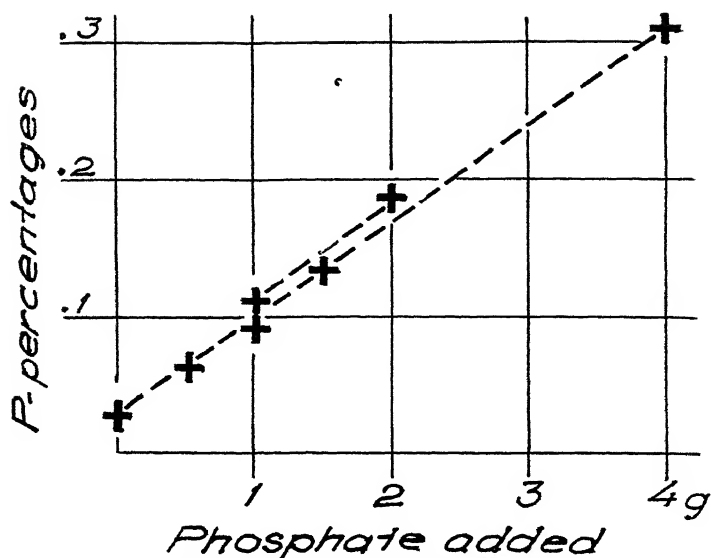


Fig. 1. The gross regression of P percentage upon the phosphate addition.

The accuracy of the whole set of P analyses is illustrated in Fig. 1.

The regression lines seem to represent the observations very well. The shorter line refers to food-mixtures I and II. Their proportionality factor does not differ significantly from the regression coefficient of the rest.

The Elimination of Calcium.

The intestinal elimination. The values for fecal calcium are shown in Tab. 10. The top line gives the numbering of the

Tab. 10.

Fecal calcium elimination in the individual rats (cg).

1	2	3	4	5	6	7
.95	.74	1.03	1.19	1.33	1.29	1.90
.96	1.24	1.49	1.36	1.46	1.60	1.85
1.08	1.15	1.18	1.80	1.45	1.77	1.62
1.20	1.24	1.49	1.74	1.87	1.64	1.72
.98	1.66	1.87	1.23	1.59	1.72	2.27
1.034	1.206	1.412	1.464	1.540	1.604	1.872

animals, the bottom line the means. The pertaining analysis of variance suggests that the variation between the animals is significantly wider than the variation within them (Tab. 11).

Tab. 11.

Analysis of variance of fecal calcium elimination.

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	S. D.	log. nat. 10 S. D.
within the animals	28	1.7824	.0636	.2523	.925
between the animals	6	2.2204	.3701	.6084	1.806
total	34	4.0028		$z = .88$ $z_{\min.} = .63$	

One of the problems of the present investigation is to find the factors which cause this considerable inter-class variation.

Alimentary factors and the weights of the rats. At first, some purely alimentary factors were tested. Table 12 contains the

Tab. 12.

Food ingested, dry substance in deagram.

1	2	3	4	5	6	7
1.12	.94	.95	1.14	1.09	1.01	1.34
1.01	1.06	1.17	1.09	.96	1.14	1.35
1.04	1.17	1.28	1.03	1.20	1.18	.92
1.05	1.34	1.53	.85	.93	1.06	1.03
1.25	1.52	1.61	.88	1.27	1.11	1.13
1.094	1.206	1.308	.998	1.090	1.100	1.154

figures for total food consumption. The analysis of variance gives the difference (z) a value of .24, while the 5 per cent probability requires .63. Therefore, the inter-class variation cannot be considered significantly wider than the intra-class variation.

The next step is to determine whether the dissimilarities in *percentages* of calcium and of fat between the different food-mixtures modify the result of the analysis of variance, when the *absolute amounts* of intake of the components mentioned

are considered. The values of these consumptions are given in Tab. 13 and Tab. 14.

Tab. 13.

Calcium consumption (cg).

1	2	3	4	5	6	7
.18	.16	.20	.22	.22	.22	.31
.16	.18	.25	.21	.20	.24	.32
.17	.19	.28	.20	.24	.25	.22
.17	.22	.33	.17	.19	.23	.24
.20	.25	.35	.17	.26	.24	.27
.176	.200	.282	.194	.222	.236	.272

Tab. 14.

Fat consumption (g).

1	2	3	4	5	6	7
1.05	.88	.87	1.05	1.02	.94	1.35
.95	.99	1.08	1.00	.89	1.06	1.36
.98	1.10	1.16	.94	1.12	1.10	.93
.99	1.26	1.41	.78	.87	.98	1.04
1.18	1.43	1.48	.81	1.18	1.03	1.14
1.030	1.132	1.200	.916	1.016	1.022	1.164

The new analyses of variance show that this is the case for the consumption of calcium only, the difference (z) taking the following values:

for the consumption of calcium94,
 » » » » fat31,
 minimum value63.

The alimentary factor which above all may be assumed to exert an obvious influence upon the intestinal elimination of calcium is the phosphorus in the food. The experimental data for the consumption of this element are given in Tab. 15. It follows from the experimental program that the inter-class variation in this case is very much wider than the intra-class variation.

Thus, among the factors so far mentioned, there are only three which show a wider inter-class than intra-class variation,

Tab. 15.

Phosphorus consumption (cg).

1	2	3	4	5	6	7
1.27	1.78	.58	.29	1.44	.93	4.15
1.14	2.02	.71	.28	1.27	1.05	4.19
1.17	2.21	.78	.26	1.58	1.09	2.85
1.19	2.54	.92	.22	1.23	.98	3.19
1.41	2.88	.98	.22	1.68	1.03	3.51
1236	2.286	.794	.254	1.440	1.016	3.578

viz. the consumption of calcium and phosphorus and, as seen from Tab. 1, the body weights of the rats also. Our problem, therefore, represents a multiple covariation, and it is solved in the usual way by calculating net regression coefficients according to the principle of least squares, after a successive introduction of the three variates to be examined into the system of observation equations. The result of this calculation is seen in Tab. 16.

Tab. 16.

Net regression coefficients for fecal calcium elimination as dependent variate.

Body weight	3.8 ± 1.6 2.4 (4.0)	2.8 ± 3.9 .7 (4.6)	2.2 ± 5.1 .4 (5.8)
Ca ingested		1.5 ± 5.0 .3	1.9 ± 6.1 .3
P ingested			$.02 \pm .12$.2

Tab. 16 is divided in squares. The upper line of each square gives the net regression coefficients and their mean error; the lower line presents the values of the quotient (t): the first figure is the value observed, the second the value required for odds 99 against 1 that the coefficient may be regarded as greater than zero. It is seen in Tab. 16 that none of the argument variates included, not even the consumption of phosphorus, comes up to this requisite.

It remains to examine whether the experimental factor which did not show a sufficiently wide inter-class variation, viz. the consumption of fat, may be connected with the variation of

fecal calcium *within* the animals. The regression coefficient takes a positive sign, it is true, but the value is only about 2.2 times its mean error. The corresponding probability is in the region of .05 and may not be considered sufficiently significant, though the tendency to covariation is unmistakable. The poor significance may depend on the narrow variation range of the fat ingestion and on inexactitudes of the fat values. The question will be discussed in a subsequent paper of this series.

Other factors. The next step is to determine the relation between the fecal calcium elimination and some other, more endogenous factors. One of these is the renal elimination of calcium. It should be noticed that the incompleteness of the collection and the small amounts of urine render the values of urinary calcium somewhat uncertain. Only the inter-class variation can be given (Tab. 17).

Tab. 17.

Animal	Urinary Ca cg	Fecal Ca cg
1	.023	1.034
2	.042	1.206
3	.034	1.412
4	.039	1.464
5	.031	1.540
6	.037	1.604
7	.050	1.872
Mean	.037	1.447

The value of the quotient (*t*) for the regression coefficient does not exceed 2 and, consequently, may not be considered significantly greater than zero. Therefore, a relation between the urinary and the fecal calcium cannot be demonstrated.

Tab. 18.

Fecal phosphorus elimination (cg).						
1	2	3	4	5	6	7
.22	.15	.40	.28	.31	.31	.66
.21	.62	.46	.57	.33	.42	1.20
.17	.26	.39	.43	.28	.51	1.01
.39	.32	.45	.53	.30	.40	.69
.31	.40	.62	.27	.31	.57	1.22
.260	.350	.464	.416	.324	.460	.956

The second factor is the fecal phosphorus. The experimental data for the elimination of this element with the intestinal excreta are shown in Tab. 18.

The pertaining analysis of variance gives the difference (z) a value of 1.2, from which follows that the variation of the

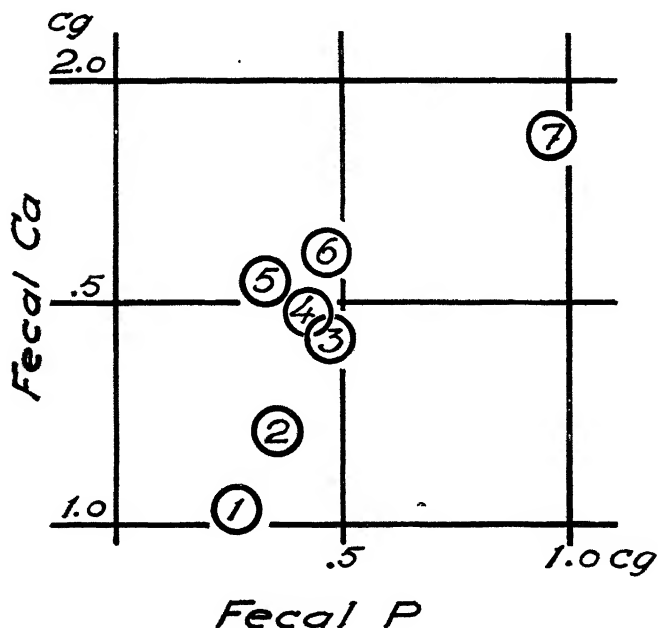


Fig. 2. The corresponding values of fecal phosphorus and fecal calcium.

means is significantly wider than the variation from day to day. The correspondence of the two variates in question is illustrated in Fig. 2.

No significant covariation can be proved, because the value of t does not exceed 3 times its mean error, the corresponding probability being in the region of .03 only. Nevertheless, a tendency to covariation should not be overlooked. A glance at the Figure may suggest a curved regression line, but the introduction of the squared values of the argument variate does not improve the significance.

One of the numerical analyses in the preceding sub-paragraph indicates that the intra-class variation of the fat consumption cannot be considered responsible for the variations in the fecal elimination of calcium *within* the rats, because the significance of the regression coefficient is too poor. It should be tested whether this significance can be enriched by an additional introduction of the fecal phosphorus into the system of observation equations referring to the condition *within* the animals. This is not the case. Neither the fat consumption nor the fecal phosphorus elimination comes out with a significant regression coefficient, when both of these argument variates are included.

The result of the numerical analysis hitherto performed indicates that not a single one of the experimental factors examined can be made responsible for the considerable variation in the intestinal elimination of calcium. An interesting fact is that the wide variation in the consumption of phosphorus is not followed by a variation in this elimination. A possible reason for this is the presence in the food and the intestinal contents of a component like tri-stearine which may eliminate the influence of other factors, owing to its capacity of forming insoluble soaps with calcium.

The renal elimination. It has already been implied that the collecting of urine is more difficult than the collecting of feces. It may be well to consider this condition a little more. The grating of the urinary separator may be liable to cause some sprinkling, but this was practically avoided by placing the urine receptacle in a high beaker. A more serious objection may be that the urine adheres to the glass tubes at the bottom of the cage and dries up there. The urine was collected after every 24-hour period and the inside of the funnel-shaped support together with the separator and the inside of the beaker was washed and the wash-water and the urine united for analysis. But the washing of the glass tubes was performed after the 5th and 10th day only. Consequently,

the urinary constituents, which refer to the last experimental day proper, may be obtained in greater quantity than those referring to the other days. Therefore, a partition of the urinary calcium into inter-class and intra-class categories was not possible.

The daily output of urinary calcium has already been tabulated (Tab. 17). The values were obtained by adding the calcium quantities from each day and divide the sum by the number of days (5). Consequently, they represent arithmetical means, the numerical structure of which is not known. Tab. 17 shows that the figures are low, in no case exceeding .5 mg, and rather uniform. If they are placed as dependent variates in a system of observation equations in the usual way, using all available concomitant data as independent variates, the result is that none of these factors shows a significant co-variation with the urinary calcium. This result may be regarded as somewhat surprising. Assuming that great quantities of ammonium phosphate in the food should be liable to cause a decrease of the alkali reserve of the blood and, consequently, an increase of the urinary calcium we should rather have expected a demonstrable relation between the phosphorus consumption and the urinary output of calcium.

Attention should be called to another point in this connection, namely the participation of the kidneys in the total elimination of calcium. It is derived from Tab. 17 that the mean of this participation accounts for 2.47 per cent only, with the moderate variance of .206.

Phosphorus.

The intestinal elimination. Turning now to the main object of the present investigation we refer in the first place to the contents of phosphorus in the solid excreta, tabulated above (Tab. 18). The analysis of variance indicates that the variation between the animals is considerably wider than within them. But this result is due to the profuse elimination in rat 7 only,

for if the values from this animal are excluded from the analysis of variance, the significance of the difference (z) is lost.

Just as was done with regard to the elimination of calcium above, our object in this paragraph is to study the conditions which govern the fecal elimination of phosphorus. The study

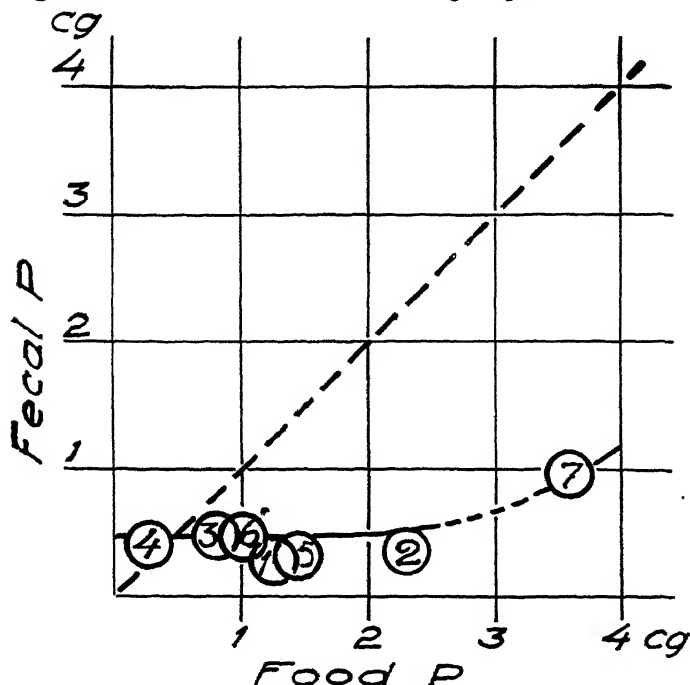


Fig. 3. The corresponding values of food phosphorus and fecal phosphorus. The regression line has been drawn by eye.

has led to the conclusion that none of the concomitant factors recorded shows any significant covariation with this elimination, possibly with the exception of fecal calcium, which has already been mentioned. The result may be regarded as remarkable. This is especially true of the ingestion of phosphorus, as this variate was expected to present a demonstrable relation with the fecal elimination of phosphorus. The alleged correspondence is illustrated in Fig. 3.

A glance at the Figure suggests a curved regression line. A direct attempt to fit a second degree parabola has failed, it is true, but this failure seems to depend essentially upon the narrow variation range of the phosphorus intake. Fig. 3 points to the conclusion that — up to an intake of about 20 mg — no connection seems to exist between the oral consumption and the intestinal elimination of the element in question, but that a positive covariation may begin above this limit. If such is the case, the relation may exemplify the rule of the oblique-angled hyperbola proposed by the present author for the regression of fecal output of *calcium* upon the corresponding intake of this element (1938). This rule implies a limit of resorption for phosphorus, as for calcium, which means that, if the corresponding intake exceeds a certain value, a constant quantity is absorbed, irrespective of the size of the intake. The present observation series does not permit of a location of this limit. Probably, it is considerably higher than 40 mg.

Fig. 3 shows a detail of additional interest, relating to rat 4, which had received pure basal food, i.e. without addition of ammonium phosphate. The intake of this animal was 2.5 mg only. The corresponding quantity of fecal phosphorus amounted to 4.2 mg. This shows that the elimination of phosphorus with the intestinal excreta can exceed the simultaneous intake of this element, provided that the intake is sufficiently low.

The renal elimination. It remains to seek the concomitant factors which control the urinary elimination of phosphorus. The experimental data, in the form of means for the different rats, are given in Tab. 19.

The usual numerical analysis indicates that one single experimental factor shows a significant covariation with the renal elimination of phosphorus, viz. the consumption of phosphorus. The corresponding regression coefficient amounts to about 17 times its mean error. The covariation is illustrated in Fig. 4.

Tab. 19.

Urinary phosphorus elimination (cg).

Animal	Urinary P
1	2.030
2	2.772
3	1.296
4	.580
5	2.170
6	1.374
7	4.738
Mean	2.137

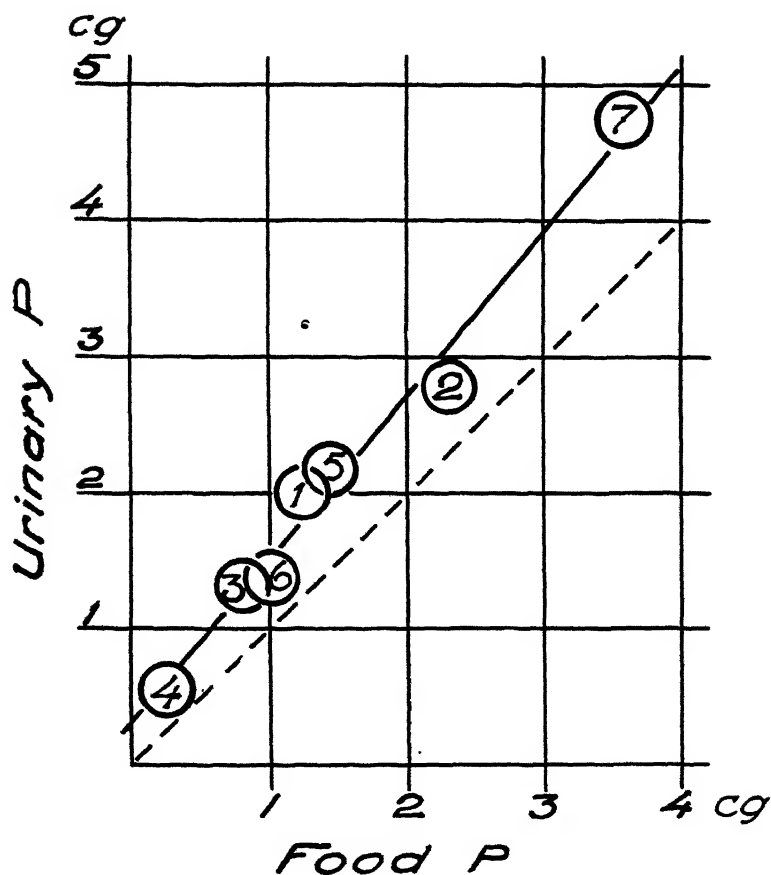


Fig. 4. The regression of urinary phosphorus upon food phosphorus.

The absolute value of the regression coefficient is 1.2. Consequently, the quantities of phosphorus which are secreted by the kidneys increase more rapidly than the corresponding increase of the phosphorus consumption. This is shown graphically in Fig. 4 by the difference in slope between the diagonal, with a regression coefficient of 1.00, and the regression line in question. But the difference between the regression coefficients of these two lines (2) is only 2.8 times its mean error. Therefore, the corresponding probability is in the region of .04 and cannot be considered significant. The conclusion to be drawn from this is that — above an extrapolated basal value of about 6 mg of urinary phosphorus corresponding to the consumption of totally phosphorus-free food — the quantities which are consumed with the food are excreted in the urine practically quantitatively, when the source of phosphorus is ammonium phosphate and the ingestion of this element does not exceed the limit established in the present investigation. Furthermore, it follows from what has already been said about the rule of the oblique-angled hyperbola that — at still higher levels of phosphorus intake — the regression of urinary phosphorus upon this intake may approach an asymptote parallel to the abscissa, the numerical value of which may be put equal to the constant quantity of phosphorus, absorbed above the proposed limit.

Summary.

(1) Seven adult albino rats of male sex were given a basal diet very low in calcium, phosphorus and fat soluble vitamins and containing about 9.5 per cent tri-stearine, to which different quantities of ammonium phosphate ($(\text{H}_4\text{N})_2\text{HPO}_4$) had been added. The experiment lasted for 10 days and the intake of calcium and phosphorus with the diet, as well as their excretion in feces and urine were measured for the last five days.

(2) It was found that the variation between the animals in urinary and fecal phosphorus was wide, whereas the variation in urinary and fecal calcium was more narrow.

(3) Various covariations arising from the study have been discussed and analysed numerically:

(a) The reason for the variation in the fecal output of calcium cannot be settled. Not one of the concomitant factors recorded, not even the varying consumption of phosphorus, can be considered responsible for this variation.

(b) The reason for the very wide variation in urinary phosphorus has been found to be the concomitant variation in the intake of phosphorus, and this alone. The amounts of phosphorus consumed are excreted practically quantitatively by the kidneys. In spite of this, the content of calcium in the different samples of urine is rather uniform and not related to their varying content of phosphorus.

(c) As to the variation in the fecal output of phosphorus, the possibility has been discussed that the regression of this output upon the phosphorus intake follows an oblique-angled hyperbola.

(d) The excretion of urinary calcium accounted for about 2.5 per cent only of the total excretion of this element.

Sammanfattning.

Fosfor- och calcium-omsättningen hos fullväxta råttor med ammoniumfosfat som enda fosforkälla och på calcium-fattig näring.

Denna undersökning avhandlar fosfors och calciums omsättning hos fullväxta djur (vita laboratorieråttor). Dess uppgift är tvåfaldig: dels att lämna en så fullständig redovisning som möjligt för inkomst och utgifter av dessa grundämnen, dels att utröna de faktorer, som bestämma hur stor del av dem bortgår från kroppen genom tarmen och genom njurarna.

Såsom fosforkälla användes ammoniumfosfatet $(\text{H}_4\text{N})_2\text{HPO}_4$, som utfodrades i olika mängd åt olika djur, inblandat i försöknäringen. Av annan fosfor gavs endast det, som fanns kvar i de enskilda näringsbeståndsdelarna efter omsorgsfull rensning. Detsamma gäller calcium. Den mängd av calcium, som förtärdes av djuren per dygn, uppgick till ett värde, som

motsvarar 0,7 gram per 75 kg kroppsvikt. Det är något mer än vad är brukligt för en stor del av vårt lands invånare. Den ogynnsamma inverkan av denna ringa calciumförtäring skulle ytterligare förvärras av att försöksdjuren erhöles en fettart med mättad fettsyra och hög smältpunkt, nämligen tristearin. Djurens tillgång till D-vitamin var praktiskt taget ingen, något som också torde överensstämma med förhållandet hos de flesta fullväxta människor i vårt land under vintern.

Undersökningens viktigaste resultat äro följande:

1) Försöksdjuren ledo väldiga förluster av calcium med tarmuttömningen, cirka 6 gånger mer än vad samtidigt förtärdes. Dessa förluster, som väsentligen bero på näringens stearin, kunde icke minskas genom att öka fosforförtäringen.

2) Urinens calciummängd var obetydlig och utgjorde blott 2,5 procent av den totala calciumutsöndringen. Den var ganska likartad hos de olika djuren och dessutom oberoende av alla experimentella faktorer.

3) Tarmuttömningens fosformängd var måttlig och ganska likartad hos de olika djuren. Något beroende av andra faktorer kunde icke med säkerhet påvisas, möjligen med undantag av tarmuttömningens calciummängd. Sannolikt resorberades av tarmen all den fosfat-fosfor, som förtärdes, i det att tarmuttömningens ganska konstanta fosforinnehåll torde härstamma från kroppen. Dock tyder undersökningen på att det finns en övre gräns för denna resorption, över vilken den antager ett konstant värde. Då härstammar en stigande del av tarmuttömningens fosfor från näringens fosfor.

4) Den mängd fosfor, som bortgår med försöksdjurens urin, visade sig troget följa den fosformängd, som förtärdes. Dock bortgick mera fosfor med urinen än den motsvarande förtärda mängden. Liksom beträffande calcium ledo alltså djuren fosforförluster, vilka icke kunde minskas, hur mycket ammoniumfosfat-fosfor än förtärdes. — För calcium skedde dessa förluster huvudsakligen med tarmuttömningen, för fosfor huvudsakligen med urinen.

References.

- FISHER, R. A., 1930. Statistical Methods for Research Workers, 3rd Ed.
NICOLAYSEN, R., 1937. Studies upon the mode action of vitamin D III. —
Biochem. J., Vol. XXXI.
WESTERLUND, A., 1929. A contribution to the knowledge of Ca metabolism. —
Scand. Arch. f. Physiol., Vol. 58.
—, 1934. Fat and calcium metabolism. — Annals Agric. Coll. Sweden,
Vol. 1.
—, 1938. Crude fibre and calcium metabolism II — Scand. Arch. f. Physiol.,
Vol. 80.

Über Fluoreszenz der Gytjaböden.

Von G. TORSTENSSON, SIGURD ERIKSSON und LAMBERT
WIKLANDER.

Aus dem Institut für allg. Ackerbaulehre.

Die speziell in Finnland und Schweden ziemlich häufig vorkommenden Gytjaböden sind in letzter Zeit in der Fachpresse wiederholt von agrikultureller und bodenkundlicher Seite behandelt worden. So hat in Finnland AARNIO (1937) das chemische Verhalten dieser Böden beschrieben. KIVINEN (1938) hat ihre physikalischen Eigenschaften untersucht und KESO (1930) hat sie speziell von kulturtechnischem Standpunkt aus behandelt. In letztgenannter Beziehung hatten schon FLODKVIST und EKSTRÖM (1926) in Schweden den Untergrund dieser Böden beschrieben. Aus jüngster Zeit liegen einige Arbeiten von FRANCK (1938) und von den Verfassern dieser Arbeit vor (1937 u. 1938), die speziell die Düngerverhältnisse der Gytjalehmböden behandeln.

Am hiesigen Institut sind die Untersuchungen der Gytjaböden von verschiedenen Standpunkten aus aufgenommen worden. Dabei ist u. a. auch die von HOCK (1938) vorgeschlagene Lumineszenzanalyse im filtrierten ultravioletten Licht geprüft worden. HOCK hatte bei seinen diesbezüglichen Untersuchungen feststellen können, dass Ausschüttelungen von Böden mit Natriumoxalatlösung Fluoreszenzfarben gaben, die für die Humusformen der verschiedenen Bodentypen charakteristisch waren.

Bei unserer Nachprüfung der Methode an Gyttjaböden interessierte es uns besonders festzustellen, ob irgendwelche für die Gyttjaböden typische Fluoreszenzfarben vorhanden seien. Das war nicht der Fall, und wir haben dann verschiedene organische Extraktionsmittel für diese Untersuchungen benutzt. Dabei wurden u. a. Ethanol, Azeton und Benzol versucht, wobei die zwei erstgenannten, also Ethanol und Azeton, sich als besonders geeignet erwiesen.

Methodik und Resultate der Untersuchungen.

Anfangs wurde mit einer kleineren Anzahl von extremen Bodentypen gearbeitet, unter denen sich sowohl reine Gyttjaböden und gyttjahaltige Mineralböden wie reine Mineral- und Torfböden befanden. Die Böden wurden mit den verschiedenen Extraktionsmitteln geschüttelt, worauf die Flüssigkeit in Glasröhren abfiltriert wurde. Die so erhaltene Flüssigkeit wurde in den Röhren unter einer Quecksilberlampe — Quarzlampe — in ultraviolettes Licht gebracht, wobei die Fluoreszenz der verschiedenen Extrakte studiert werden konnte.

Diese vorbereitenden Untersuchungen zeigten, wie schon oben erwähnt, dass von den angewendeten Extraktionsmitteln Ethanol und vor allem Azeton die geeignetsten sind. Von den anderen wird deshalb in diesem Bericht abgesehen. Beim Studium der Ethanol- und Azetonextrakte ergab sich bald ein grosser Unterschied in der Fluoreszenzfarbe der verschiedenen Böden. Die Extrakte der Mineralböden zeigten Farben, die ins Blauviolette, Blaue oder Graue, die Torfböden solche die ins Graue spielten, während die Gyttjasubstanz enthaltenden Böden meistens mehr oder weniger rot, manchmal sogar blutrot fluoreszierten. Die Ethanol- und Azetonextrakte verhielten sich ungefähr gleich, aber die Farbendifferenzen und Farbenintensitäten waren bei den letzteren viel ausgeprägter und stärker. Da die Bodensubstanz in Azeton sehr schnell sedimentiert, war es nicht nötig, die Flüssigkeit abzufiltrieren, sondern die Fluoreszenzfarbe konnte in dem über dem Boden stehenden Azetonextrakt bestimmt werden.

Die Ethanolbehandlung wurde nur bei etwa 40 Böden durchgeführt. Dagegen wurde die Azetonbehandlung an mehr als 200 verschiedenen Böden versucht, von denen die meisten aus verschiedenen Teilen Schwedens stammten. Dank freundlichem Entgegenkommen der Herren Prof. Dr. L. Rinne, Tartu, Estland, Dr. A. Løddesøl, Oslo, Norwegen, Dr. E. Kivinen, Helsinki, Finnland, und Prof. Dr. B. D. Wilson, Ithaca, U. S. A., ist es uns möglich gewesen, auch Gytjtjåbøden der genannten Länder heranzuziehen. Eine Anzahl von schwedischen Gytjtjåbøden sind uns von Herrn Staatsagronom K. Lundblad, Stockholm, und Herrn Staatsgeologen Dr. G. Ekström, Stockholm, zur Verfügung gestellt worden. Auf diese Weise ist es uns gelungen, eine ziemlich repräsentative Auswahl von Böden für unsere Untersuchung zu erhalten, und wir möchten auch an dieser Stelle für das uns gezeigte Entgegenkommen unseren besten Dank aussprechen.

Das Farbblatt Seite 171 gibt ein Beispiel von den Fluoreszenzfarben verschiedener Böden bei der von uns benutzten Methode. Die obere Reihe umfasst verschiedene Gytjtjåbøden, die alle mehr oder weniger ins Rote spielen; darunter sind verschiedene Mineral- und Torfbøden angegeben. Es ergibt sich aus dem Bild deutlich, dass grosse Differenzen der Fluoreszenzfarbe vorkommen können. Die Nummern der Röhrchen beziehen sich auf die nebenstehende Erklärung.

In der folgenden Übersichtstabelle haben wir die von uns untersuchten Gytjtja- und Gytjtjålehmbøden zusammengestellt und zwar in der Anordnung, dass zuerst die verschiedenen Gytjtjåbøden kommen und dann die Lehmgytjtja- und Gytjtjålehmbøden folgen. Die Übersicht weist ausser der Fluoreszenzfarbe, die in der letzten Kolumne angegeben wird, auch die Werte des Glühverlustes und des pH aus, da diese beiden Werte manchmal einen gewissen Anhalt für die Charakteristik dieser Böden geben. Mehrere der untersuchten Proben stammen von Böden, die in der Literatur schon ausführlich beschrieben worden sind, z. B. Rickebasta träsk (SERNANDER

1924), Bälunge mosse (ERIKSSON 1912) und Ålbergmyren (HOLMSEN 1922).

Von einer Stelle wurden mehrere Proben nur in die Übersicht aufgenommen, wenn sie sich in irgendeiner Beziehung von einander wesentlich unterscheiden. Vom Lilleströmmen z. B. wurden mehrere Proben von Gytjtalehm- und Lehmgyttjaböden untersucht, die den beiden aufgeführten sehr ähnelten. Dasselbe gilt auch von den Böden aus Tibble und anderen Orten Mittelschwedens.

Verzeichnis der untersuchten Gytjtjaböden.

Bodenart	Herkunft der Probe	Tiefe der Probe- nahme in cm	Gly- verlust %	pH ¹	Fluo- reszenz
Detritusgyttja, mo- und schluffge- mischt	Vesan, Blekinge, Syd- schweden	0—20	22	4,8	braunrot
dasselbe	Apalsjön, Lista, Söderman- lands län, Mittel- schweden	0—20	28	4,1	blutrot
mit Sand und Lehm	Ytterby, Stockholms län, Mittelschweden	0—20	28	4,2	schmutzig rotgrau
sandgemischt	Barkaryd, Blekinge, Süd- schweden	0—20	32	5,1	schmutzig grau
mit Lehm und Schluff	Ytterby, Stockholms län, Mittelschweden	0—20	39	4,0	rotgrau
etwas sandgemischt	Märserum, Blekinge, Süd- schweden	0—20	59	4,5	schmutzig grau
etwas moglemischt	Holusjö, Blekinge, Süd- schweden	0—20	51	4,5	schmutzig rotgrau
Detritusgyttja	ditto	0—20	78	4,6	rotgrau
schluffgemischt	Öljehult, Blekinge, Süd- schweden	0—20	74	4,7	grau
Detritusgyttja	Joroinen, Finnland	—	10	4,9	blutrot

¹ pH in Wassersuspension von lufttrockener Probe.

Bodenart	Herkunft der Probe	Tiefe der Probe- nahme in cm	Gluhverlust %	pH	Fluo- reszenz
Detritusgyttja, mit Lehm und Schluff	Äyräpää, Finnland	70—120	25	4,9	blutrot, hell)
Detritusgyttja	Eurojoki, Finnland	20—30	33	5,1	blutrot
etwas Niedermoororf	Viipuri, Finnland	0—50	33	3,2	schwach rot
mit Diatomeen	Tibble, Södermanlands län, Mittelschweden	40—60	50	4,2	blutrot
mit Lehm und Dia- tomeen	Östunaberg, Stockholms län, Mittelschweden	60—80	31	4,7	blutrot
Detritusgyttja	Västra Ed, Småland, Süd- schweden	ung. 50	59	4,6	schwach rot
grob	Örsmossen, Upland, Mittel- schweden	167—170	80	6,5	ziegelrot
fein	ditto	170—200	63	—	ziegelrot
mit etwas Nieder- moortorf	Ålbergmyren, Nord-Trønde- lag-fylke, Norwegen	450—500	94	5,5	graurot
grob	ditto	550—600	64	5,7	graurot
mit etwas Diatomeen	ditto	650—700	62	6,0	hellrot
mit Diatomeen	Brandåmyren, Möre- und Romsdal-fylke, Norwegen	ung. 280	29	4,3	braunrot (starke Farbe)
mit viel Diatomeen	ditto	" 320	24	3,8	braunrot
grob, mit Diatomeen	ditto	" 370	19	4,2	braunrot
mogemischt	Visnemyren, Möre- und Romsdal-fylke, Norwegen	" 350	15	3,7	gelbrot
Detritusgyttja	Cornell University, Ithaca, U. S. A.	—	59	4,2	graurot
"	ditto	—	68	4,3	graurot
mit Diatomeen, schluff- und sand- gemischt	Sandby, Upland, Mittel- schweden	0—20	67	4,9	hellrot, klar
mit viel Diatomeen, Seggetorfgemischt	Hällnäs, Upland, Mittel- schweden	0—20	67	5,9	hellrot

Bodenart	Herkunft der Probe	Tiefe der Probe- nahme in cm	Gluhverlust %	pH	Fluo- reszenz
Detritusgyttja					
stark diatomeenhaltig	Hållnäs, Upland, Mittel- schweden	—	23	5,4	blutrot
schluffgemischt	Tiena, Norrbotten, Nord- schweden	ung. 30	20	3,2	rot
Detritusgyttja	ditto	30	21	3,3	(grau)rot
fein	Lilla Bärsta, Upland, Mittelschweden	50—70	52	5,7	blutrot
Detritusgyttja	ditto	130—150	47	5,8	blutrot
"	Bälinge stormosse, Upland, Mittelschweden	325—335	92	—	blutrot
"	ditto	ung. 500	—	—	graurot
"	Rickebasta träsk, Upland, Mittelschweden	75—130	53	6,1	blutrot
Papiergyttja	Antuna, Upland, Mittel- schweden	ung. 20	19	3,8	(schwach) rot
"	Lilla Bärsta, Upland, Mittelschweden	" 45	61	4,2	ziegelrot
Rotbraune Algengyttja	Experimentalfältet bei Stockholm	" 70	80	5,7	blutrot
Planktongyttja	Bälinge stormosse, Upland, Mittelschweden	335—370	—	—	blutrot
"	ditto	370—380	—	—	blutrot
"	Rickebasta träsk, Upland, Mittelschweden	130—150	14	6,4	blutrot
"	ditto	170—200	26	6,3	blutrot
Schilftorf mit Gyttja	Lilla Bärsta, Upland, Mittelschweden	100—130	86	5,7	blutrot
Gyttja mit Phragmites- torf	ditto	—	79	5,8	ziegelrot
Lehmige Plankton- Gyttja	Rickebasta träsk, Upland, Mittelschweden	150—170	14	6,7	blutrot
Schwammtorf mit Gyttja	ditto	50—75	71	6,2	blutrot
Kalkgyttja	Lilla Bärsta, Upland, Mittelschweden	70—90	16	—	blutrot

Bodenart	Herkunft der Probe	Tiefe der Probe- nahme in cm	Gilb- verlust %	pH	Fluo- reszenz
Kalkgyttja	Körts-See, Estland	500—600	5	7,9	rotbraun (hell)
"	300 m. ost. Kaasik-See Estland	400—450	14	8,0	hell rot- braun
"	Männik-See, Estland	450—470	14	8,0	ziegelrot
"	Pulsi am Kaasik-See, Est- land	420—460	13	7,9	ziegelrot
"	Kaasik-See, Estland	410—440	14	7,9	ziegelrot
"	ditto	450—470	13	7,9	ziegelrot
" (»Schnecken- mergel«)	Sätuna, Upland, Mittel- schweden	ung. 35	13	7,5	klar hell- rot
Lehmgyttja					
mit Schluff und Mo	Vasa, Finnland	" 100	7	5,7	blutrot (schwach)
mit Diatomeen	Tibble, Södermanland, Mittelschweden	40—60	18	4,8	blutrot
Lehmgyttja	Östunaberg, Upland, Mittel- schweden	0—15	32	5,7	blutrot
schluffgemischt	ditto	45—60	17	5,1	blutrot
Lehmgyttja	Ultuna, Upland, Mittel- schweden	ung. 25	29	7,1	blutrot
mit viel Detritus	Lilleströmmen, Akershus- fylke, Norwegen	200—230	28	5,0	hellblau- grau
Lehmgyttja	Östra Ed, Småland, Süd- schweden	ung. 30	27	3,5	schmutzig rot
"	Lomma, Skåne, Süd- schweden	" 55	13	4,4	rotbraun
"	Mosjön, Örebro län, Mittel- schweden	0—20	18	4,5	hellrot
mit viel Feindetritus	Wärnsta, Upland, Mittel- schweden	20—40	24	2,8	braunrot
Lehmgyttja	Bälinge stormosse, Upland, Mittelschweden	380—400	12	—	ziegelrot
Gyttja-Lehmboden	Tenala Vestankärr, Finn- land	60—80	6	3,7	rot (schwach)

Bodenart	Herkunft der Probe	Tiefe der Probe- nahme in cm	Glühverlust %	pH	Fluo- reszenz
Gyttja-Lehmboden schluffgemischt	Viipuri, Finnland	50—100	10	3,5	schwach rot
»	Säkkijärvi, Finnland	50—100	10	3,0	blutrot
»	Esbo, Finnland	18—50	10	4,5	hell blau- violett
»	Tibble, Södermanland, Mittelschweden	60—80	6	3,5	blutrot
mo- und schluffge- mischt	Östunaberg, Upland, Mittel- schweden	0—15	14	5,3	rot
Gyttja-Lehmboden	ditto	15—30	8	5,1	blutrot
mit Diatomeen	ditto	20—35	15	5,4	blutrot
Gyttja-Lehmboden	Ekoln-See, Upland, Mittel- schweden	0—5	11	4,0	gelbrot
mogemischt	Haapsalu, Estland	aus dem Gyttjabad	10	6,9	rotbraun
Gyttja-Lehmboden	Vassunda, Upland, Mittel- schweden	ung. 100	8	3,8	rot
»	Hovstallängarna, Upland, Mittelschweden	20—40	14	4,5	rot
»	ditto	0—20	—	5,0	graurot
»	Bodarne, Upland, Mittel- schweden	0—20	20	4,4	violett schwach
»	Hammarby, Edebo, Stock- holmslän, Mittelschweden	0—20	8	6,1	graublan
»	Offer, Västernorrlands län, Nordschweden	0—25	22	5,8	schwach rotviolett
»	ditto	25—35	5	4,8	ditto
»	Lilleströmmyren, Akershus- fylke, Norwegen	230—250	9	5,0	hellblau- grau
Gyttjagemischterschwe- rer Lehmboden	Målhammar, Västmanland, Mittelschweden	ung. 70	5	6,0	hellrot
ditto	ditto	» 40	5	4,8	schwach rot

Bodenart	Herkunft der Probe	Tiefe der Probe- nahme in cm	Glühverlust %	pH	Fluo- reszenz
Gyttjagemischter schwerer Lehm Boden	Onnerup, Skåne, Süd-schweden	ung. 40	4	7,0	hellblau
ditto	Ultuna, Upland, Mittelschweden	" 60	4	6,5	schwach rot
"	ditto	" 45	8	7,2	blutrot
" kalkhaltig	Lomma, Skåne, Süd-schweden	" 100	6	6,0	hellblau
Gyttjalehm Boden	Västerfärnebo, Västmanland, Mittelschweden	" 50	13	5,2	hellrot (nicht klar)
"	Mosjön, Örebro län, Mittelschweden	" 30	6	3,5	rotbraun
"	ditto	" 60	6	3,4	braunrot
"	Askö-Barkarö, Västmanland, Mittelschweden	30—40	5	4,1	hellrot
"	ditto	70—80	5	3,9	ziegelrot (schwach)
"	Västerfärnebo, Västmanland, Mittelschweden	ung. 110	3	4,8	ziegelrot
"	Hagesta, Skaraborgs län, Mittelschweden	0—20	18	5,8	rotviolett
"	Örsta, Stockholms län, Mittelschweden	0—20	10	4,0	schmutzig grau
Gyttjagemischter Lehm Boden	Riekebasta träsk, Upland, Mittelschweden	240—310	9	6,6	ziegelrot
<p><i>Nachträglich erhielten wir durch Entgegenkommen von Prof. Dr. O. Brüne, Bremen, vier Gytjaprobe aus Deutschland, dessen Verhalten aus folgender Übersicht hervorgeht.</i></p>					
Grangelbliche Algen-gyttja	Schwenteiner See Ostpreussen, Fläche Lewandowski	20—50	51	7,5	ziegelrot
Dunkelgrau Algen-gyttja	ditto	20—50	34	7,7	ziegelrot
Lehmgyttja	Fläche Bulla, Gross-Rohrheim, Hessen Fläche B	40—80	9	7,8	schwach rotgrau
"	ditto Fläche C	40—60	11	7,9	schmutzig grau

Obwohl uns in agrikultureller Hinsicht in erster Linie die obersten Horizonte der Böden interessieren, haben wir doch der Vollständigkeit halber auch tiefere Schichten untersucht.

Ein Studium der Übersicht zeigt, dass etwa 90 % der untersuchten Gytjtja- resp. Gytjtjalehmböden in Azetonextrakten mehr oder weniger *rot* fluoreszieren. Dagegen ist es uns nicht gelungen, irgend eine Spur von roter Farbe in ähnlichen Extrakten aus Mineral- oder Torfböden zu entdecken, trotzdem wir eine relativ grosse Anzahl der verschiedensten diesbezüglichen Bodenarten untersucht haben. Die grosse Differenz zwischen gytjtjahaltigen Böden einerseits, und anderen Böden organischen Ursprungs wie Hochmoor- und Niedermoortorf sowie auch humusreichen Mineralböden andererseits ist besonders bemerkenswert. Die letzteren zeigen keine Spur von roter Farbe.

Nach Tacke (1930) dürfte die rote Fluoreszenzfarbe bei Ethanolextrakten von Gytjtjaböden auf den Chlorophyllgehalt derselben zurückzuführen sein, und dasselbe gilt aller Wahrscheinlichkeit nach auch für unsere Azetonextrakte. Die Nuance der roten Farbe des Chlorophylls stimmt auch sehr gut mit der der Gytjtjaböden überein, und in den Extrakten derjenigen Gytjtjaböden, die das stärkste Rot ergeben, ist der Chlorophyllgehalt sogar so gross, dass das Extrakt bei gewöhnlichem Licht grünlich erscheint.

Bei der Bildung der Gytjtjasubstanz spielen bekanntlich Grünalgen eine wesentliche Rolle, und unter anaëroben Bedingungen ist das Chlorophyll derselben sehr lange haltbar. Die grüne Farbe ist auch oft beim Studium der Gytjtjaböden unter dem Mikroskope leicht zu entdecken. In diesem Zusammenhang kann auch daran erinnert werden, dass Treibs in mehreren Erdölarten Chlorophyllderivate gefunden hat, (Karrer 1936), was auch darauf deutet, das Chlorophyll sehr lange haltbar ist, wenn es gegen Oxydation geschützt ist.

Dass das Chlorophyll, das mit der Vegetation in den Ackerboden hineingepflügt wird, nicht genügt, um eine rote Fluoreszenz der Ackerkrume gewöhnlicher Mineralböden zu ver-

ursachen, dürfte darauf beruhen, dass erstens ein grosser Teil des Chlorophylls der Pflanzen schon zerstört ist, ehe es in den Boden kommt, und dass zweitens sogar eine kräftige Gründung den Gehalt des Bodens an organischer Substanz prozentuell sehr wenig erhöht. Es ist anzunehmen, dass das Chlorophyll sich so verhält, wie organische Substanz im Boden überhaupt, d. h. dass durch Klima und landwirtschaftliche Massnahmen etc. eine gewisse Gleichgewichtslage erreicht wird. Diese liegt aber so niedrig, dass der Chlorophyllgehalt nicht genügt, um die rote Fluoreszenzfarbe hervorzubringen.

Wenn wir die Tabelle Seite 158—163 ansehen, finden wir, wie bereits erwähnt, dass einige Gytjtjåbøden andere Fluoreszenzfarben als rot aufweisen. Ein näheres Studium der Tabelle zeigt aber, dass die meisten Proben, die eine Trübung der roten Farbe oder sogar eine andere Farbe aufweisen, aus der Ackerkrume stammen, wo der Boden Oxydation ausgesetzt ist. Dass die Oxydation der betr. Bodensubstanz der roten Fluoreszenz stark entgegenwirkt, ergibt sich aus folgenden zwei Versuchen. Einige der Böden, deren Extrakte die stärkste Rotfärbung zeigten wurden einen Tag lang mit 1 % Lösung von H_2O_2 behandelt. Nach dieser Behandlung wurden die Böden in gewöhnlicher Weise mit Azeton geschüttelt und die Fluoreszenz untersucht. Diese war dann nicht wie vorher blutrot, sondern graugelb bis graurot. Dasselbe Resultat, obwohl nicht ganz so entschieden, erhielten wir, wenn die Böden bei $110^\circ C$ getrocknet wurden.

Es liegt also die Möglichkeit vor, dass die Gytjtjåbøden, die jetzt anders als rot fluoreszieren, ursprünglich einen höheren Chlorophyllgehalt gehabt haben, dass aber durch Bodenbearbeitung und eventuelle andere oxydationsfördernde Faktoren das Chlorophyll zerstört worden ist.

Unzweifelhaft gibt es aber gytjtjahaltige Böden, die keine oder nur sehr geringe Spuren von roter Fluoreszenz zeigen, auch wenn sie aus grosser Tiefe stammen, z. B. sämtliche Proben aus Lillestrømmyren in Norwegen, aus Esbo in Finnland und aus Lomma in Südschweden.

In diesem Zusammenhange sei erwähnt, dass selbstverständlich nicht nur das Chlorophyll für die Fluoreszenz der Gytjtjeböden verantwortlich gemacht werden darf, sondern dass auch andere Substanzen da mitwirken. Wenn ein Boden mit Azeton behandelt wird, können zwei Typen von Verbindungen als Träger der Fluoreszenzeigenschaften angesehen werden. Erstens solche, die in Azeton löslich sind, vor allem Stoffe von lipoidartiger Natur, und zweitens solche, die in Azeton unlöslich sind, die aber in kolloiddispersen Zustand in dem Azeton suspendiert vorkommen. Von diesen letzteren dürften anorganische Kolloide wenig zu bedeuten haben, da anorganische Stoffe in der Regel weniger fluoreszieren als organische. Die Vermutung liegt aber nahe, dass in diesem Falle mehrere Substanzen gleichzeitig fluoreszieren, dass aber die Fluoreszenz des Chlorophylls andere eventuelle Fluoreszenzfarben mehr oder weniger überdeckt.

Wie schon erwähnt, ist es uns in keinem Falle gelungen, eine rote Fluoreszenz bei anderen Böden als bei Gytjtjaböden zu bekommen. Es scheint uns deshalb, als ob eine Fluoreszenzuntersuchung eine bequeme Schnellmethode zur Bestimmung von Gytjtjaböden bieten könnte. Hierbei ist aber die Einschränkung zu machen, dass man nur in dem positiven Falle, wenn man rote Fluoreszenz bekommt, sagen kann, dass Gytjtja vorhanden ist, nicht aber aus dem Ausbleiben der Fluoreszenz auf das Fehlen von Gytjtja geschlossen werden darf.

Wir sind uns wohl bewusst, dass eine rote Fluoreszenz eventuell auch in gewissen Niedermoortorfen auftreten kann, obwohl wir keinen solchen Fall angetroffen haben. Da Niedermoortorf aber ohne weiteres von Gytjtjaböden unterschieden werden kann, dürfte dies zu keinen grösseren Irrtümern führen.

Es schien uns deshalb zweckmässig, eine Methode auszuarbeiten, nach der man derartige Untersuchungen ausführen könnte. Wie schon oben erwähnt ist, sedimentiert die Bodensubstanz in Azeton sehr schnell, und man braucht also nicht die Flüssigkeit abzufiltrieren, sondern die Boden-Azetonsuspension kann nach dem Schütteln ein paar Stunden stehen und

dann wird die ganze Probe unter die Quecksilberlampe gebracht. Auch das Verhältnis zwischen Bodensubstanz und Azeton ist Gegenstand unserer Aufmerksamkeit gewesen, und es hat sich gezeigt, dass dieses Verhältnis keine grössere Rolle spielt, wenn es innerhalb mässiger Grenzen gehalten wird. Wir haben etwa 5—10 g. lufttrockenen Bodens auf etwa 25 cm³ Azeton verwendet.

Es macht auch nichts Wesentliches aus, wenn der Boden ziemlich nass ist, aber in diesem Falle ist es zweckmässig, etwas mehr Azeton zu verwenden. Bei zu viel Wasser im Verhältnis zu Azeton wird die rote Fluoreszenz nicht auftreten, was aus folgenden Experimenten hervorgeht.

Zu einem Chlorophyll-Azetonextrakt von grünen Weizenpflanzen wurde Wasser sukzessiv zugesetzt und die Veränderungen der Fluoreszenz beobachtet. Bei annähernd gleichen Teilen Wasser und Azeton verschwand plötzlich die rote Farbe, um bei Azetonzusatz wiederzukommen. Die grüne Lösung, die man durch Zerreiben von grünen Pflanzen in Wasser erhalten hatte, fluoresziert nicht rot aber bei überschüssigen Zusatz von Azeton trat auch hier die rote Farbe sofort heraus. Die rote Farbe kann also durch Wasser entfernt, und durch Azeton zurückgebracht werden usw. Dasselbe gilt auch für den Gytjtjaextrakt.

Dass nur sehr kleine Mengen von Chlorophyll nötig sind, um rote Fluoreszenz hervorzubringen, geht daraus hervor, dass bei einem Azetonextrakt von 25 g grünen Weizenpflanzen in 100 g Azeton die typische Fluoreszenzfarbe des Chlorophylls noch bei einer Verdünnung von 1:8 000 schwach zu beobachten war.

Zusammenfassung.

Durch die Arbeiten von Hock (1936) angeregt, haben die Verfasser verschiedene Extrakte aus Gytjtjaböden unter der Quecksilberlampe in filtriertem ultraviolettem Licht untersucht. Dabei zeigte es sich, dass Azetonextrakte von gytjtja-

haltigen Böden, wegen ihres Gehaltes an Chlorophyll, mehr oder weniger *rot* fluoreszieren.

Es schien uns da zweckmässig zu untersuchen, ob diese rote Fluoreszenz als Charakteristikum für Gytthjasubstanz dienen könne, und deshalb haben wir verschiedene Gytthjaböden aus Schweden, Norwegen, Finnland, Estland, Deutschland und den Vereinigten Staaten untersucht. In etwa 90 % der Fälle zeigten alle gytthjahaltigen Böden rote oder rötliche Fluoreszenz und die meisten der Proben, die eine andere Farbe zeigten, stammten aus der Ackerkrume, wo der Boden und damit auch das Chlorophyll für Oxydation ausgesetzt war.

Besonders für Lehmgyttja- und Gytthjalehmböden, die manchmal ohne Mikroskop und Fachkenntnisse schwierig zu bestimmen sind, möchten wir die Fluoreszenzmethode als geeignete Schnellmethode empfehlen. Hierbei muss jedoch darauf geachtet werden, dass ein Ausbleiben der roten Farbe nicht unbedingt bedeutet, dass Gytthja nicht vorhanden ist.

Sammanfattning.

Författarna hava undersökt extrakt från olika gytthjor¹or² under kvicksilverlampa, »kvartslampa». Därvid har det visat sig att acetonextrakt av gytthjehaltiga jor³dar i allmänhet fluorescera mer eller mindre rött på grund av dessa jor⁴ders innehåll av klorofyll.

Det låg då nära till hands att undersöka, om denna röda fluorescens kunde tjäna som karaktistikum på gytthjesubstans, och därför har ett stort antal olika gytthjehaltiga jor⁵dar från Sverige, Norge, Finland, Estland, Tyskland och Förenta Staterna blivit föremål för dylik undersökning. I ungefär 90 % av alla fall visade de gytthjehaltiga jor⁶darna röd eller rödaktig fluorescens, och flertalet av de prov, som avveko härifrån härstammade från matjor⁷dar, där åkerjor⁸den och således även däri befintligt klorofyll varit utsatt för oxidation. I intet fall ha författarna funnit röd fluorescens i mineraljor⁹dar eller moss- och kärrtorvjor¹⁰dar.

Särskilt för lergyttjor och gyttjeleror, som ofta äro svåra att bestämma utan mikroskop och fackkunskap, kan fluorescensmetoden användas som snabbmetod. Härvid måste dock hållas i minnet, att ett uteblivande av röd fluorescens i acetonextraktet ej nödvändigtvis betyder att gyttja ej förekommer i provet.

Literaturverzeichnis.

- AARNIO, B., 1937. Über Gytjtjaböden. — *Bodenkunde und Pfl.-ern.* 2, S. 186.
- EKSTRÖM, G., & FLODKVIST, H., 1926. Hydrologiska undersökningar av åkerjord inom Örebro län. — *S. G. U. Årsbok* 19.
- ERIKSSON, J. V., 1912. Bältinge mossars utvecklingshistoria och vegetation. — *Sv. Bot. Tidskr.* 6, S. 105.
- FRANCK, O., 1938. Några försöksresultat rörande gyttjelerors brukning, kalkning och gödsling. — *N. J. F.* 1938, H. 4—7, S. 346.
- HOCK, A., 1936/37. Farbtiefen- und Farbtonwerte als charakteristische Kennzeichen für Humusform und Humustyp in Böden nach neuen Verfahren. — *Bodenkunde und Pfl.-ern.* 2, S. 304.
- HOLMSEN, G., 1922. Torvmyrernes lagdelning i det sydlige Norges lavland. *N. G. U.* nr 90.
- KARRER, T., 1936. *Lehrbuch der organischen Chemie.* Leipzig.
- KESO, L., 1930. Kulturtechnische Bodenuntersuchungen mit besonderer Berücksichtigung der Strangentfernung. — *Valtion Maatalouskoetoiminnan julkaisuja* 32, S. 1.
- KIVINEN, E., 1938. Über die Eigenschaften der Gytjtjaböden. — *Bodenkunde und Pfl.-ern.* 9/10, S. 122.
- SERNANDER, R., 1924. Rickebasta träsk. — *Sveriges Natur* 15, S. 29.
- TACKE, BR., 1930. Die Humusböden der gemässigten Breiten. — *Handbuch der Bodenlehre von Blanck IV*, S. 124 & 146.
- TORSTENSSON, G., & ERIKSSON, S., 1937, 1938. Studien über die Festlegung der Phosphorsäure in Gytjtjaböden I, II. — *Annalen d. landw. Hochschule Schwedens* 5, S. 377 & 6, S. 89.
-

(MS. empfangen am 9. März 1939.)

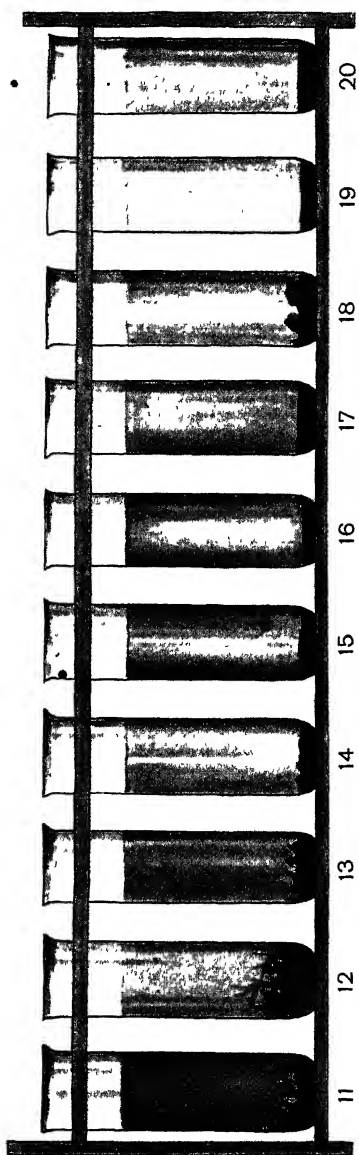
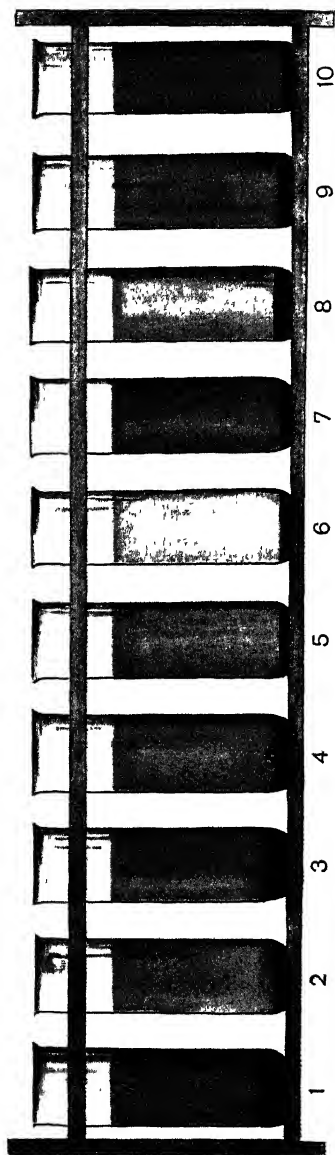
Erklärung des Bildes.

Oben: gyttjahaltige Böden.

1. Papiergyttja, Upland, Mittelschweden.
2. Kalkgyttja, Upland, Mittelschweden.
3. Detritusgyttja mit grossem Diatomeengehalt, Upland, Mittelschweden.
4. Detritusgyttja mit viel Diatomeen, gemischt mit Seggetorf, Upland, Mittelschweden.
5. Lehmgyttja, Skåne, Südschweden.
6. Gyttjagemischter schwerer Lehm Boden, Västmanland, Mittelschweden.
7. Rotbraune Algengyttja, Experimentalfältet, Mittelschweden.
8. Detritusgyttja mit Diatomeen, Brandsåmyren, Norwegen.
9. Detritusgyttja, Södermanland, Mittelschweden.
10. Detritusgyttja, Joroinen, Finnland.

Unten: Mineral- und Torfböden.

11. Niedermoortorf, Upland, Mittelschweden.
 12. Hochmoortorf, Upland, Mittelschweden.
 13. Humusarmer Schluffboden, Värmland, Mittelschweden.
 14. Humusarmer Sandboden, Skåne, Südschweden.
 15. Humusreicher schwerer Lehm Boden, Skåne, Südschweden.
 16. Glazialer Ton, »Keramikton», Upland, Mittelschweden.
 17. Humusarmer Mo Boden, Upland, Mittelschweden.
 18. Humusreicher Tonboden, »Dungboden», Östergötland, Mittelschweden.
 19. Schluffgemischter leichter Lehm Boden, »Björklara», Södermanland, Mittelschweden.
 20. Tonboden, Västergötland, Mittelschweden.
-



Pollen Tube Growth in Apple Styles after inter-varietal Cross-pollination.

By OTTO HEILBORN.

From the Institute of Plant Systematics and Genetics.

I. Introduction.

In a paper recently published in this journal (HEILBORN, 1938) the writer analyzed the growth of the pollen-tubes in self-pollinated flowers of some diploid apple varieties. The present investigation is a continuation of that work and deals with the pollen-tube growth in *cross*-pollinated apple flowers (inter-varietal crosses). All varieties investigated are diploids. The main purpose of this continued investigation has been twofold: To find, if possible, an explanation of the greatly variable *degrees* of fertility of the various cross-pollinations of apples; and to test the possibility of *measuring* these degrees of fertility by measuring the growth of the pollen-tubes. In both respects positive results, though as yet incomplete, have been obtained.

Earlier works on pollen-tube growth in apple styles are practically lacking. AFIFY'S (1933) diagrammatic data are of little or no value and are not confirmed by the present work. There are also a few observations on apple pollen-tubes in a paper by KOBEL & STEINEGGER (1934). Though obviously correct, they are too incomplete to supply much of a clue. Hence,

the growth of the apple pollen-tubes had to be investigated from the very beginning.

The method has been described in my first paper (l. c. 1938). The diagrams of the pollen-tube growth, presented there, show very great regularity. Obviously, the pollen-tubes, having once entered the sheltered racecourse, offered by the conductive tissue of the style, are to a high degree independent of such changes in weather and other external influences as would act disturbingly. It has, therefore, appeared possible to simplify the work still more. At each time interval of a pollination experiment, the styles of only one single flower have been cut off and fixed, and of these styles only two have been investigated microscopically. Hence, each point in the curves of fig. 4 is based upon only two styles, belonging to one flower. This is a small amount of material but appears to be sufficient. Intervals from half a day to four days have been tried. In most cases of cross-pollination, the foremost tube-ends reach the base of the style in three days, but sometimes this happens much earlier, and sometimes four days may be required. For the study of inter-varietal cross-pollination, the following series of intervals is, therefore, recommended: 1, 1 $\frac{1}{2}$, 2, 3, 4 days. — Each of the diagrams in fig. 1—3 represents one individual style.

The amount of pollen, used for the pollination of a flower, should be small (as pointed out in my previous paper) but not so scanty as to make the distribution of the tube-ends (conf. diagrams of fig. 1—3) indistinct. For the analysis of the growth of the pollen-tubes the callose plugs are of great aid. Such plugs (in the older parts of the tubes) show of course that tube-ends are still to be found farther down the style. The production of callose — as plugs preponderatingly in the older parts of the tubes, and in the swollen walls of both older parts and near the ends — depends very much upon the degree of fertility of the various combinations of varieties. Pollen-tubes that grow rapidly straight down the style produce but little callose; at the same time their ends are moderately

swollen or practically not at all so. On the other hand, tubes that stop their growth definitely immediately below the stigma produce large quantities of callose and their ends are strongly and abnormally swollen. The production of much callose seems to be a pathological phenomenon and indicates decreased fertility. The same holds good for the effusion (of mucilage?) often observed round and ahead of the tube-ends of slow-growing or stopping tubes (conf. KOBEL, l. c.). A mere inspection of the slides thus supplies much immediate evidence of the fertility which is then analyzed in further detail by counting the tube-ends and plotting them in graphs.

An unexpected source of error was met with a couple of times. There are whole series of pollination in which the pollen grains *did not germinate at all*, though the combinations of varieties used were known to be fertile. Generally the germination of the pollen grains is easy in both fertile and sterile combinations (the growth of the tubes after germination being the critical stage). Why the grains failed to germinate, is unknown (heat, drought?), but the failure has seemed worthy of mention because the same thing may probably happen under natural garden conditions, quite as well as with artificial pollination. It may possibly account for part of such unexpected irregularities in the setting of fruit as are sometimes met with in orchards.

II. Description of graphs.

Fig. 1 shows growth diagrams for two combinations of varieties, demonstrating the distribution of tube-ends at various intervals. This *distribution* of pollen tube-ends along the styles has turned out to be of great significance. Fig. 2—3 contain diagrams of such distributions *at about the time when the ends of the foremost (fastest) tubes have reached the base of the style*. Fig. 4, finally, renders growth curves for the *foremost* pollen tube-ends and supplies information as to the *speed* of the tube-growth.

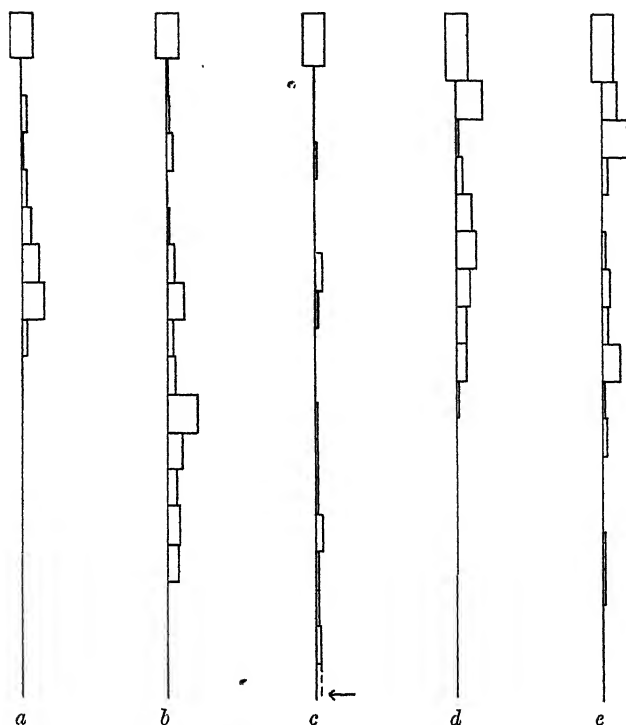


Fig. 1. Graphs demonstrating pollen-tube growth in the styles of cross-pollinated apple flowers. Each graph (representing one individual style) shows the relative frequency of pollen tube-ends in the various parts of the style (0.5 mm thick sections; conf. l. c. 1938). Stigmata at the top. — *a-c* »Signe Tillisch» ♀ × »Åkerö» ♂, after 22, 32, and 68 hours respectively; the arrow indicates the base of the style (the vast swarm of tube-ends in *c* having already passed the style and entered the ovary). — *d-e* »Sävsta-holm» ♀ × »Transparente blanche» ♂, after 48 and 72 hours respectively; a rear group of strongly swollen tube-ends lingers below the stigma and does not proceed further.

1. »Signe Tillisch» ♀ × »Åkerö» ♂. The pollen grains germinate easily and the pollen-tubes proceed rapidly down the style. The foremost tubes reach the base of the style in less than $1\frac{1}{2}$ day. The majority of tube-ends is found immediately behind these fastest tubes and there are only very few ends lagging in the upper parts of the style. Already after two days the majority of tube-ends (constituting the

mode of the curve) has disappeared from the style and entered the ovary. The lagging tubes probably also continue their growth, though more slowly. There are no greatly swollen tube-ends. As indicated by the graphs, this combination should be highly fertile.

2. »Melon» ♀ × »Åkerö» ♂. The germination of the grains and the growth of the tubes is rapid. The fastest tubes reach the base of the style in less than 1 1/2 day and there are only very few lagging tube-ends (not abnormally swollen). Obviously also a highly fertile combination!

3. »Sävstaholm» ♀ × »Gyllenkrok's Astrachan» ♂. The germination of the pollen grains is slow. After germination the tubes grow at a moderate and constant rate. After 66 hours the fastest tube-ends had not quite reached the base of the style, after 75 hours the foremost tubes were just entering the ovary. There is but little lagging and swelling of tube-ends.

4. »Åkerö» ♀ × »Melon» ♂. The germination of the grains seems to be somewhat irregular, probably due to the hairiness of the stigmata of »Åkerö» (conf. HEILBORN, l. c., p. 173). The rate of growth is of intermediate strength, and the tube-ends appear normal. No conspicuous lagging.

5. »Melon» ♀ × »Big transparent Astrachan» ♂. Relatively rapid germination and a moderate rate of growth. Practically no swelling of the tube-ends.

6. »Melon» ♀ × »Yellow Richard» ♂. Germination is slow. As pointed out earlier (l. c., p. 173), the slow pollen germination appears to be an inherent characteristic of this variety. There is but little lagging and no conspicuous swelling of the tube-ends. The rate of growth is moderate.

7. »Wealthy» ♀ × »Åkerö» ♂. The germination of the grains is relatively slow. Still after 55 hours there are rather many ungerminated grains and only few tube-ends are observed in the styles. The rate of growth of the latter is normal and moderate, practically without any lagging, though the tube-ends are often swollen. However, after 67 hours a rear

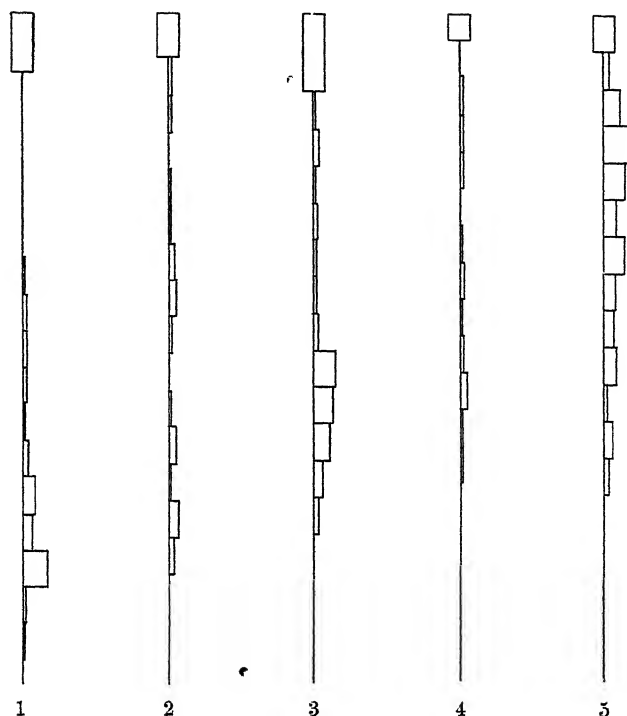


Fig. 2. Graphs demonstrating the relative frequency of pollen tube-ends in the various parts of apple styles after cross-pollination, at about the time when the foremost (fastest) tube-ends have reached the base of the style. — 1 »Signe Tillisch» ♀ × »Åkerö» ♂ (after 32 hours), 2 »Melon» ♀ × »Åkerö» ♂ (after 27 hours), 3 »Sävstaholm» ♀ × »Gyllenkrok's Astrachan» ♂ (after 66 hours), 4 »Åkerö» ♀ × »Melon» ♂ (after 72 hours), 5 »Melon» ♀ × »Big transparent Astrachan» ♂ (after 48 hours).

group of numerous, strongly swollen tube-ends had appeared in the upper part of the style, just below the stigma. The retarded development of this group of pollen grains makes the distribution of the tube-ends bimodal. Only the vanguard of normally developing tubes has any chance of reaching the ovary and ovules, and this group contains only few tubes. Such circumstances will probably result in decreased fertility.

8. »Yellow Richard» ♀ × »Signe Tillisch» ♂. The germination of the grains is relatively rapid. The distribution

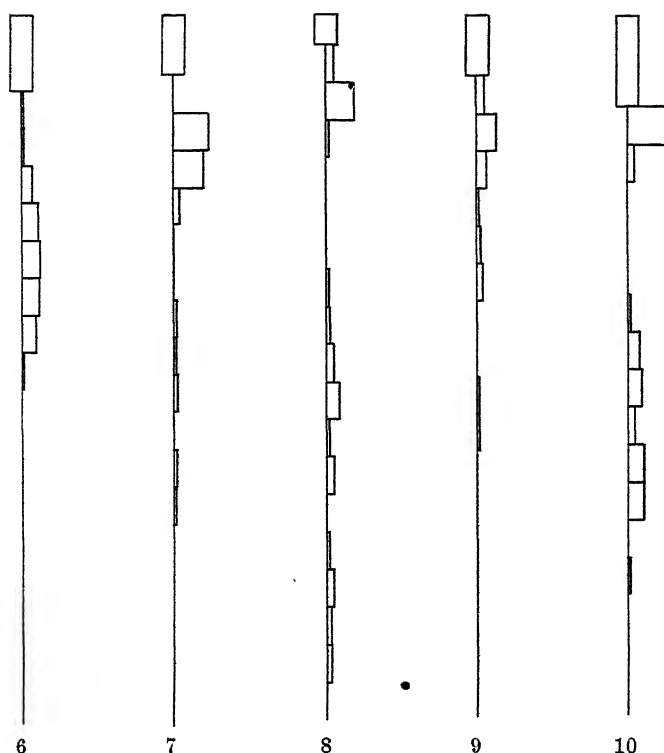


Fig. 3. The same as fig. 2. — 6 »Melon» ♀ × »Yellow Richard» ♂ (after 48 hours), 7 »Wealthy» ♀ × »Åkerö» ♂ (after 67 hours), 8 »Yellow Richard» ♀ × »Signe Tillisch» ♂ (after 69 hours), 9 »Yellow Richard» ♀ × »Melon» ♂ (after 45 hours), 10 »Sävtaholm» ♀ × »Transparente blanche» ♂ (after 72 hours). In 7—10 a rear group of tube-ends is observed lingering immediately below the stigma.

of the tube-ends is bimodal with a vanguard of relatively normal and rapidly growing ones, and a rear group of strongly swollen tube-ends with much callose. 43 hours after pollination the rear group had grown $1\frac{1}{2}$ mm, and 69 hours after pollination its position was still $1\frac{1}{2}$ mm below the upper surface of the stigma. Consequently, it has completely stopped just below the stigma and cannot take part in the fertilization of the ovules.

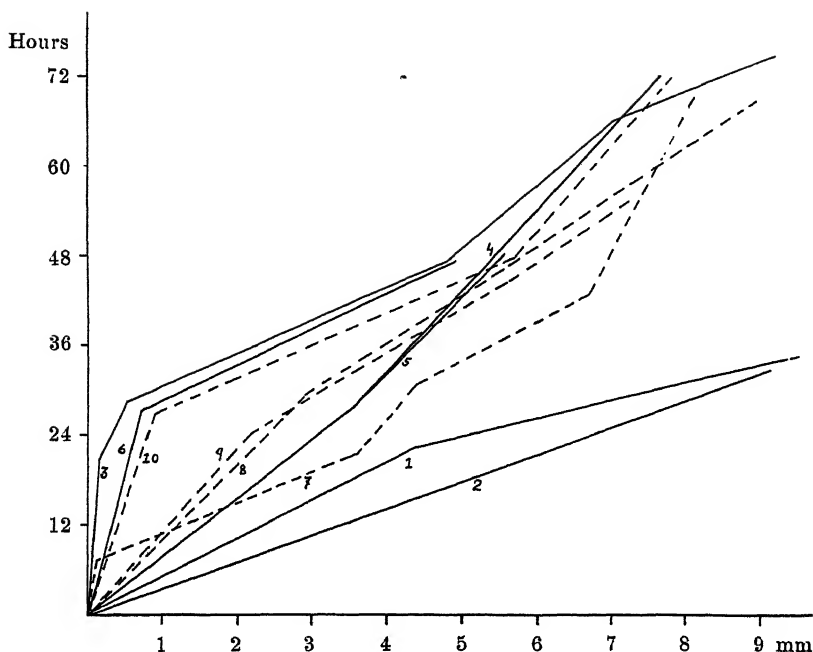


Fig. 4. Graphs demonstrating the growth of the *foremost* (fastest) pollen tube-ends in the styles of cross-pollinated apple flowers. Mean values (conf. 1. c. 1938). — 1 »Signe Tillisch» ♀ × »Åkerö» ♂, 2 »Melon» ♀ × »Åkerö» ♂, 3 »Sävstaholm» ♀ × »Gyllenkrok's Astrachan» ♂, 4 »Åkerö» ♀ × »Melon» ♂, 5 »Melon» ♀ × »Big transparent Astrachan» ♂, 6 »Melon» ♀ × »Yellow Richard» ♂, 7 »Wealthy» ♀ × »Åkerö» ♂, 8 »Yellow Richard» ♀ × »Signe Tillisch» ♂, 9 »Yellow Richard» ♀ × »Melon» ♂, 10 »Sävstaholm» ♀ × »Transparente blanche» ♂. Broken lines represent the combinations 7—10 (conf. fig. 3). Slow germination in 3, 6, and 10.

9. »Yellow Richard» ♀ × »Melon» ♂. The situation is about the same as in the preceding case, though the rear group (stopping a few mm below the stigma) contains relatively more numerous, and the vanguard fewer, tube-ends. From 45 to 69 hours the rear group did not perceptibly change its position, while the fastest tubes of the vanguard during that time entered the ovary.

10. »Sävstaholm» ♀ × »Transparente blanche» ♂. The germination of the grains is slow. A very pronounced rear

group of greatly swollen tube-ends stops altogether immediately below the stigma. The growth of the foremost tubes is moderate and appears to become slightly retarded in the lower parts of the style.

III. Conclusions.

The ten combinations of inter-varietal cross-pollination, analyzed above, may be divided into three groups. Combinations 7—10 are characterized by a rear group of abnormally swollen tube-ends, completely stopped up just below the stigma. Combinations 1—6 lack this rear group and show very little lagging and swelling of the pollen-tubes (no pronounced certification). Again, of these latter combinations, 1—2 show a remarkably rapid pollen-tube growth (conf. fig. 4), while the rate of growth of 3—6 is moderate (as is also the case with the growth of the foremost tubes of 7—10). A comparison of the growth-curves of fig. 4 with the graphs of tube-end distributions of fig. 2—3 supplies conclusive information in this respect, especially when combined with observations on the shape and callose production of the tube-ends. The graphs of number 5 (fig. 2) and 9 (fig. 3) perhaps do not appear convincing, but as they refer to time intervals of only 48 resp. 45 hours — when the fastest tube-ends had not proceeded very far — they are not quite significant. However, it should be noted that the tube-ends are normal (not very swollen) in 5, while the retarded tube-ends in 9 are greatly swollen, containing much callose. This confirms the classification.

The growth of the foremost tubes is not retarded, or very slightly so, in the lower parts of the style. Thus, the rate of growth is practically constant. In this respect these cross-pollinations differ distinctly from the self-pollinations analyzed earlier (l. c., 1938, fig 3). In combinations 3, 6, and 10 the germination of the pollen grains is slow, but this does not affect the final result (as shown by the growth curves of fig. 4).

It may be concluded that combinations 1 and 2 should be extremely fertile, 3—6 moderately fertile, and 7—10 faintly fertile (but not sterile). With regard to 7—10, it should be especially noted that the actual *quantity* of pollen, potentially capable of fertilization, is much diminished by the stopping up of a great proportion of tube-ends just below the stigma. It is still more diminished by the dying-off of another proportion of grains that shrivel and do not germinate: About $\frac{1}{8}$ of the pollen grains of »Åkerö», $\frac{1}{8}$ of »Melon», $\frac{1}{8}$ of »Transparente blanche», and about 4 % of »Signe Tillisch» (conf. HEILBORN, 1935, fig. 6). If flowers in these combinations are pollinated with only a small quantity of pollen, fertilization may easily fail altogether.

For some of the above ten combinations of varieties data are available regarding the setting of fruit in pollination experiments (CALLMAR & JOHANSSON, 1934). Below these data are presented (»Sävestaholm» in the present work being regarded, from the point of view of fertility, as identical with »Red Sävestaholm» = »P. J. Bergius» in the investigation just cited, as the latter is a sport of the former and both have proved intersterile):

Fruit setting (%).

1. »Signe Tillisch» ♀ × »Åkerö» ♂	16.9 (1931)
3. »Sävestaholm» ♀ × »Gyllenkrok's Astrachan» ♂	6.6 (1925), 1.6 (1930)
7. »Wealthy» ♀ × »Åkerö» ♂	1.2 (1927)
8. »Yellow Richard» ♀ × »Signe Tillisch» ♂ . . .	2.6 (1931)
10. »Sävestaholm» ♀ × »Transparente blanche» ♂ .	2.3 (1930)

As is seen, agreement is fairly good. It should thus be possible to supply adequate information about the degrees of fertility of various combinations of apple varieties by presenting: 1) growth curves like those of fig. 4; 2) distribution graphs like those of fig. 2—3.

From a theoretical point of view the following additional remarks seem justified. Not more than one rear group of swollen tube-ends has been observed; consequently, more than

two groups of tube-ends have not been met with in a style, at least not with any degree of certainty. This may seem contrary to current conceptions of the genetic complexity of the apples. However, the nature of the rear group is uncertain: Is this due to incompatibility genes, or has it anything to do with the pollen lethals supposed to cause the dying-off of certain proportions of the pollen grains? On the other hand, there is evidence of differences between reciprocal pollinations. »Melon» ♀ × »Åkerö» ♂ should be highly fertile, while »Åkerö» ♀ × »Melon» ♂ seems to be less fertile. »Melon» ♀ × »Yellow Richard» ♂ shows no rear group of swollen tube-ends, while »Yellow Richard» ♀ × »Melon» ♂ has such a group. All this, again, agrees well with the supposed genetic complexity of the apples. Why the pollen tubes of combinations 1 and 2 grow so much more rapidly than those of 3—10, is not known. In both 1 and 2 »Åkerö» happens to have been the pollen parent. Is that anything more than a mere chance?

From a practical point of view the following should be added. As pointed out earlier (l. c., 1938, pp. 175—76), investigations of pollen tube growth seem to offer certain advantages to the pomologist. Exact results are obtained with a minimum of material. Moreover, most of the work is carried out in the laboratory and may, therefore, be postponed to the winther months. The last-mentioned circumstance is certainly a great advantage for any kind of experimental horticulture.

Sammanfattning.

Som en fortsättning på författarens tidigare undersökning över pollenslangarnas tillväxt i stiften hos självpollinerade äppleblommor (denna tidskrift 1938) meddelas i föreliggande arbete studier över pollenslangarnas tillväxt i stiften efter korspollination mellan olika äpplesorter. Tekniken är densamma som i föregående arbete. Resultaten äro nedlagda i

grafiska framställningar. Av dessa visar fig. 1 fördelningen (den relativa frekvensen) av pollenslangarnas spetsar över stiftets olika delar hos kombinationen »Signe Tillisch» ♀ × »Åkerö» ♂ resp. 22, 32 och 68 timmar efter pollinationen (*a-c*) samt hos »Sävstaholm» ♀ × »Transparente blanche» ♂ efter resp. 48 och 72 timmar (*d-e*). Vid korspollination nå vanligen de snabbaste pollenslangarna stiftets bas efter ungefär 3 dygn (i vissa fall dock tidigare, stundom senare). Spetsarnas fördelning i stiften vid ungefär denna tidpunkt visas för 10 olika sortkombinationer i fig. 2 och 3. I sortkombinationerna 7—10 stannar en talrik grupp pollenslangar omedelbart nedanför märket utan att ytterligare fortsätta sin tillväxt. Dessa pollenslangar ha starkt svällda spetsar med stark kallosbildning. De övriga pollenslangarna tillväxa normalt. Hos sortkombinationerna 1—6 saknas denna bakre grupp. Fig. 4 visar tillväxthastigheten hos de främsta (snabbaste) pollenslangarna. Hos sortkombinationerna 1 och 2 är pollenslangarnas tillväxthastighet hög, hos de övriga medelmåttig, hos samtliga tämligen konstant (icke retarderad som vid sterila självpollinationer). Undersökningen visar, att sortkombinationerna 1—2 böra vara mycket fertila, kombinationerna 3—6 medelmåttigt fertila och kombinationerna 7—10 svagt fertila (ehuru icke sterila). Detta synes bestyrkas av de siffror för fruktsättning, som hämtats ur CALLMARS och JOHANSSONS tabeller (1934) och återgivits på sidan 180. Ur teoretisk synpunkt förtjänar förekomsten av den efterblivna gruppen pollenslangar i sortkombinationerna 7—10 särskilt att framhållas. Ur praktisk synpunkt framhålles, att pollenslangbestämningar torde kunna med fördel användas för mätning av de olika sortkombinationernas fertilitetsgrader hos äpplen.

References.

- AFIFY, A., 1933. Pollen tube growth in diploid and polyploid fruits. — J. of Pom. and Hort. Science, Vol. XI.
- CALLMAR, G., & JOHANSSON, E., 1934. Pollinering och fruktsättning hos applesorter. — Sveriges Pom. For:s Årsskrift, Årg. 35.
- HEILBORN, O., 1935. Reduction division, pollen lethality and polyploidy in apples. — Acta Horti Bergiani, Bd. 11, N:o 7.
- , 1938. Pollen tube growth in self-pollinated flowers of diploid apple varieties. — Ann. Agric. College of Sweden, Vol. 5.
- KOBEL, F., & STEINEGGER, P., 1934. Die Befruchtungsverhältnisse von Apfel- und Birnsorten und der Nachweis von Intersterilität bei denselben. — Landw. Jahrb. d. Schweiz, Jahrg. 48.
-

The pedography of hydrologic podzol series: I. Loss on ignition, pH and amphoteric reactions.

By SANTE MATTSON and HENNING LÖNNEMARK.

From the Institute of Pedology.

Water is undoubtedly the most active soil forming factor. Thus the two great soil groups variously named the humid and the arid soils (HILGARD), the pedalfers and the pedocals (MARBUT) and the unsaturated and the saturated soils (GEDROIZ) are all expressions of the two conditions: leaching or the absence of leaching. But we need not go from one climate to another to find hydrologic series in soil formation. Locally, as we pass from dry to wet places, from soils with a low ground water table to a high one, as the topography of the region dictates, we can observe complete hydrologic series of soil formation within very small areas. Thus we find all transitions from mineral to organic soils within the humid regions, and all degrees of salinity of soils in the arid regions, all depending upon the hydrologic conditions.

A particularly interesting hydrologic soil series is found in the podzol type of soil formation as described by TAMM (1932) in his studies of the soil types in relation to soil hydrology in the forest regions of northern Sweden.

Realizing the excellent opportunity for pedologic research offered by such continuous soil series when found within a small area we have undertaken a systematic study of the distribution of the elements and the variations in properties in continuous podzol profile series. This paper is the first report on the progress of this work.

The podzol type of soil formation is the result of leaching under acid conditions (under a cover of sour humus). This leads to a cationic solvation and eluviation of the soil basoids¹ in the upper mineral soil. These are then isoelectrically precipitated (together with various amounts of humus and silica) in a lower layer where the pH is higher.

Where the drainage is good and where the water table of the soil is beyond a pedogenic influence the bleached eluvial (A_2) horizon and the rusty brown illuvial (B) horizon are thus »normally» developed. This is the »iron» podzol of which there are many variants depending upon parent material, climatic conditions, topography and vegetation.

If, however, the drainage is impeded and if the water table is high enough to influence the pedogenic processes there is formed, with increasing wetness, the »iron humus» podzol, the »humus» podzol with heavy accumulation (in the B horizon), the »humus» podzol with slight accumulation and finally, with complete submergence of the mineral horizons, the nonpodzolized bluish gray bog soil.

A complete hydrologic podzol series may be observed and studied within a distance of a few meters wherever, in a podzolized region, a bog adjoins a hill, preferably when the parent material consists of sand. By digging a trench from the bog into the hill every transition in the series is exposed to view.

The occurrence of such series within a small area of uniform parent material offers very great advantages for research. By taking a large number of samples from such a profile series, both vertically and horizontally, we are able to undertake a complete survey of the distribution of elements and of the variation in the properties. By expressing the results in a coordinate system we are able to represent each and every factor investigated in the form of a pedographic map.

A thorough investigation of this kind would involve a great

¹ As distinguished from the anionic solvation and eluviation of the soil acidoids which takes place under less acid or alkaline conditions and which leads to the formation of brown and red earths.

deal of work because the number of samples must be large and the factors that might be studied are almost unlimited. But an advantage is that any factor, or set of related factors, may be studied and published separately, a procedure which we shall adopt. Later, as the facts accumulate, a more general review will be in place.

We have located two series for our investigation. One is situated near the southern end of lake Bolmen in the province of Småland in southern Sweden. The dry end of this series ends at the top of a low, sandy hill surrounded by a high-moor whereas the wet end terminates in a thick layer of peat, the mineral soil being completely submerged. The other series is from a point about one km. south of the lake Unden in the forest region of Tiveden in the province of Västergötland. The dry end of this series ends in a several meter high, sandy hill whereas the wet end terminates in a moderately wet depression covered with water-loving mosses (*Polytrichum commune* and some *Sphagnum*) but in which the water table reaches the peaty layer only during the rainy season. Our present work deals only with this second series which we shall call the Unden series.

Description of the Unden series.

Location: Latitude = $58^{\circ} 40' 42''$, east longitude = $14^{\circ} 29' 23''$. The trench was dug 6 to 7 meters west of the highway into the southern slope of the hill.

Geology: There is no rock outcrop in the vicinity but the geological map shows amphibolite, diorite and gneiss. The unconsolidated material in the surroundings consists mostly of gravelly moraine but the hill into which the trench was dug consists of a fine sandy glacial drift, redeposited by the sea.

Topography: Undulating small hills. Elevation = 123 meters above sea level.

Climate: No data is available for the location but the Åsersund meteorological station 30 km. to the northeast may be

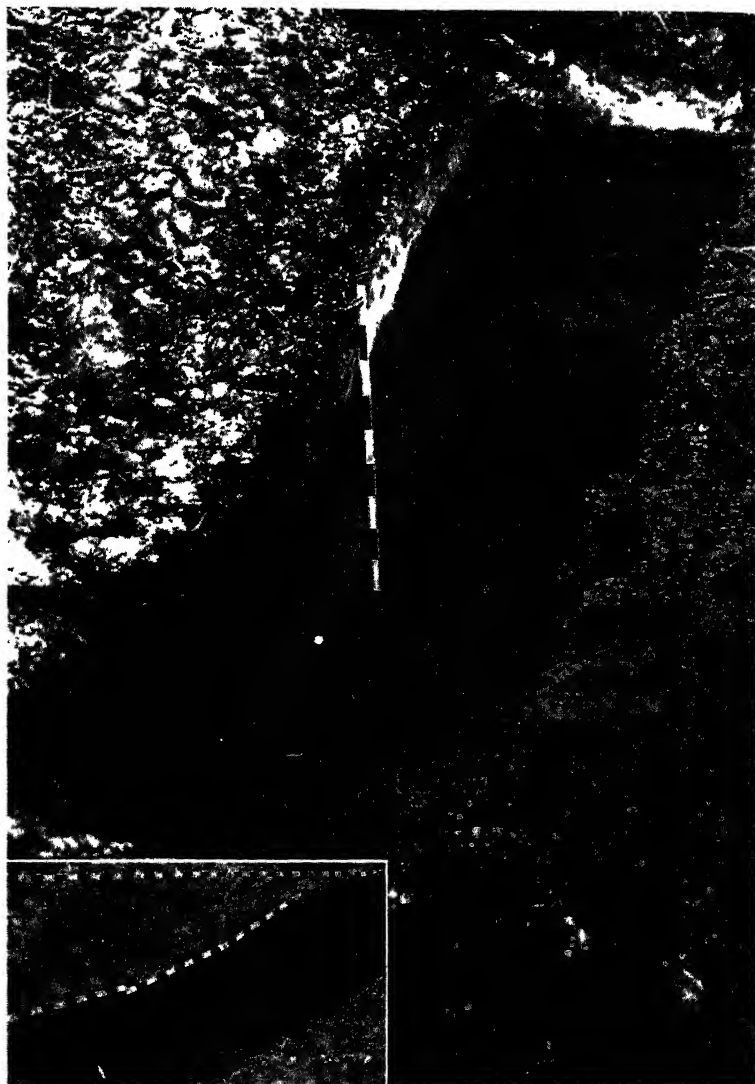


Fig. 1 a. The Unden series. The smaller photograph shows how coordinate axes x and y were erected. The four meters long trench was later extended to five meters.

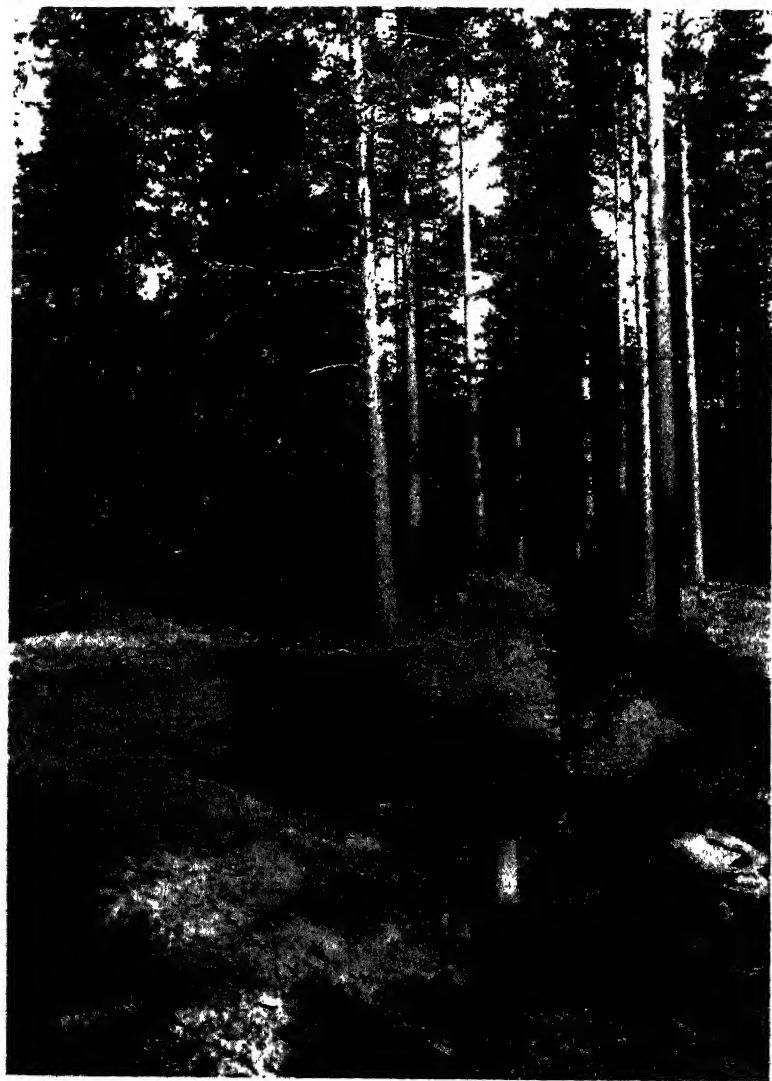


Fig. 1 b. The site of the Unden series showing forest and topography.

taken as representative for this part of the country. The data from this station are as follows: Average annual temperature = 5.8° C. (frost-free period $\approx 6.5^{\circ}$), rainfall = 644 mm., humidity factors: Langs = 99, Martonnes = 41.

Vegetation: Pine and spruce forest with a ground-vegetation which might be divided into three zones (wet, intermediate and dry) in which the following species dominate:

1. On the level, bottom part of the depression (wet end): *Polytrichum commune* with some *Sphagnum*.

2. Along the foot slope of the hill forming a one to two meter wide belt: *Ledum palustre*, *Vaccinium uliginosum*, *Empetrum nigrum*, *Calluna vulgaris* and *Holycomium parietinum*.

3. On the higher and steeper slope (dry end): *Calluna vulgaris*, *Vaccinium myrtillus*, *Holycomium parietinum*, *Vaccinium vitis idaea* and *Cladonia ranghiferina* and *C. alpestris* and others, the lichens with a few whortleberries dominating at five meters from the wet end.

The profile series: On April 20 1938 a trench, 1 meter wide and 4 meters long, was dug from the moss covered level surface up into the hill (Cf. fig. 1 a and 1 b). The ground water seeped in at the wet end at a depth of 50 to 60 cm. Samples were collected from four different profiles and a preliminary study was conducted in the laboratory.

On August 21 a fresh surface was exposed and the trench was dug 1 meter deeper into the hill (thus making it 5 meters in length) and a systematic collection of samples was made.

In the following description every point in the series at which a sample was taken is defined with reference to the coordinate axes x (horizontal) and y (vertical) which originate at a point in the air above the wet end in level with the dry end of the trench as shown in fig. 3 etc. These figures are prepared from an outline map on which the x and y values of each sample are represented by a dot, (used as decimal point), and on which the surface of the ground and the dominant vegetation has been sketched. The map shows that the wet end is about 120 cm. below the dry end of the series.

The following horizons are briefly described:

A_0 : This horizon increases from 1 to 3 cm. at the dry end to 22 cm. at the wet end. It consists of an F and H layer of varying thickness.

A_1 : This horizon is not so well defined but it varies in thickness with the A_0 horizon.

A_2 : The thickness varies between 13 and 18 cm. in the bleached end (upper dry half) of the series. At about $x=250$ cm. (cf. fig. 1) this horizon assumes a dirty gray color, widens and passes at about $x=150$ cm. into a dark brownish gray layer, (the humus podzol), which extends down to a depth of about 50 cm., and in which this horizon cannot be distinguished from the A_0 or B_1 horizons. This dark layer, which has a maximum around $x=150$, assumes a lighter gray toward the wet end. But the bluish gray color of the true bog soil does not occur in this series where the water table is relatively low, at least during dry seasons. How far the eluviated A_2 horizon extends into the humus impregnated dark layer can only be determined by analysis. It must be understood that a bleached layer is not a necessary result of podzolization which consists in a cationic solvation and eluviation of the soil basoids. If the acidoids consist of humus we get a blackish A_2 horizon.

B_1 : This horizon is yellowish brown in the dry end of the series (iron podzol) and might be estimated at from 10 to 12 cm. in thickness. At $x=250$ to 300 cm. from the wet end (the first half meter beyond the stick in fig. 1 a) it changes to a light brownish gray. It then changes to a darker color ending finally in the dark brownish gray humus podzol.

B_2 : This horizon is lighter in color than B_1 and represents a downward transition of the latter. In the dry end it occupies a layer from 36 to 42 cm. under the surface.

B_3 : This horizon has a still lighter color with a tinge of salmon color and represents a transition to

B_4 : in the dry end of the series this horizon has a maximum at about 60 cm. (Cf. fig. 1 a). The color is as dark to the

eye as the color of B₁ and has a deep tinge of salmon color.

G: The mottled glei horizon begins at about 80 cm. below the surface in the dry end of the series and extends to a depth of over one meter. It gets nearer the surface toward the wet end until it becomes untraceable in the humus podzol. The mottlings, like the various horizons, are visible in the photograph in figure 1 a.

C': Except for a small vein of gravel at a depth of 110 cm. the parent material consists of a fine sand of a light yellowish gray color.

From the five meters long profile series 190 samples were taken as follows:

Strips of wood, painted black and white at intervals of 1 dm., were bolted together in the form of a right angel. The end of the long leg of the angel (= 5 meters) was placed on the ground at the dry end of the series and the short leg was driven into the ground at the wet end until the long leg (x axis) was in a horizontal position. A steel tape measure provided with a hook was hung on the x axis thus forming the y axis which could be moved to any position. Beginning at the bottom of the trench, i. e., with high y values, a vertical series of samples were taken at each desired x value. By plotting the x and y values of each sample we get the slope of the series as shown in fig. 3 ect.

The sampling was done with a rectangular sampler of rustless steel 3.3×10 cm. and 20 cm. in length. The sampler, which was sharpened in one end and flanged in the other was hammered into the soil with a rubber mallet to a depth of 10 cm. The amount of soil thus removed was sufficient to fill a 350 cc. wide-mouth jar (0.5 kg. honey jars). The x and y values represent the center of the sampler which was held in a horizontal position or parallel to a horizon when the latter was distinct.

The four F -samples were collected on the surface at 1, 2, 3 and 4 meters from the wet end of the series. The different

plant materials represent the aerial parts of the ground-vegetation collected in the above described zones near the profile series. A ground-water sample was collected in a rubber bag.

The samples were shipped to the laboratory at once, examined for the presence of ferrous iron, dried in the air and then sifted through a 0.6 mm. sieve.

Mechanical analysis.

Only one of the profiles has thus far been subjected to a mechanical analysis. Table 1 shows the percentage of the various fractions found in profile $x = 250$ as determined by the method of the International Society of Soil Science as modified and described by ROBINSON (1936).

With the exception of the three deepest samples, in which the medium sand dominates in the sifted soil, the fine sand constitutes about three fourths of the material. The percentage clay varies, however, considerably (from 2.7 to 12.3 percent) and passes through several maxima, and, what is still more significant, the distribution of size within the clay fraction (the »colloidality» of the clay) varies still more as shown by the volume of floc.

That the volume of floc of small particles such as those present in ultra clay is roughly proportional to the number of particles is indicated by the work of ANDERSON and MATTSON (1926). This can also be theoretically accounted for by the fact that when the water envelope is thick compared to the radius of the particle the effective volumes of the micelles will be nearly the same for all particles.

Since a determination of the volume of floc requires little or no work after the soil has been prepared for mechanical analysis (oxidation of organic matter, washing with HCl and Na-saturation) we believe that such a determination would be very profitable. The volume of floc was determined by flocculating the clay and silt from 10 grams of soil in 250 cc cylinders by adding 2.5 cc. N/1 BaCl_2 . The readings were taken after 24 hours. In addition to the profile described in

Table 1.

The mechanical analysis of the Unden profile $x=250$ and the volume of floc of the clay fraction. Gravel and sand in percentage of unsifted air dry soil. All other fractions in percentage of sifted air dry soil (< 0.6 mm.).

y	Gravel and sand, > 0.6 mm. %	Medium sand, $0.6-0.2$ mm. %	Fine sand, $0.2-0.02$ mm. %	Silt, $0.02-0.002$ mm. %	Clay, < 0.002 mm. %	Vol. of floc of silt and clay fractions from 100 g. soil cc.	Vol. of floc per gram clay (colloidality) cc.
75	0.0	19.6	67.9	3.4	3.2	60	19
80	3.5	20.3	72.5	3.5	3.2	60	19
85	3.9	19.9	72.3	1.9	4.2	90	21
90	4.2	14.5	72.8	3.8	7.0	440	63
95	3.1	13.8	72.8	4.1	6.9	380	55
100	2.6	10.1	78.7	2.8	5.8	350	60
105	1.9	6.7	81.6	5.5	5.6	340	61
110	1.3	.8	75.7	10.3	12.3	1 100	90
115	trace	1.9	77.9	7.7	9.0	750	83
120	2.7	5.4	81.6	7.3	6.4	460	70
130	trace	.5	82.3	5.5	8.8	680	78
140	"	.7	78.9	12.6	6.1	360	59
150	"	1.6	68.5	21.2	7.6	280	37
160	"	10.3	65.3	12.2	5.9	240	41
170	.6	13.4	82.2	1.5	3.3	120	36
180	45.1 ¹	71.9	25.3	.4	3.0	100	33
190	55.0 ¹	73.3	23.1	1.0	2.8	90 ²	32
200	27.0 ¹	70.2	25.1	.1	2.7	150	56

table 1 the volume of floc was determined in two other profiles, namely in $x=0$ and in $x=500$. The results are shown in the photograph in fig. 2. If it should be found desirable we shall later extend this determination to include the entire series.

¹ Mostly gravel.

² Strong rusty colored layer (gley). (Cf. effect of this in fig. 10).

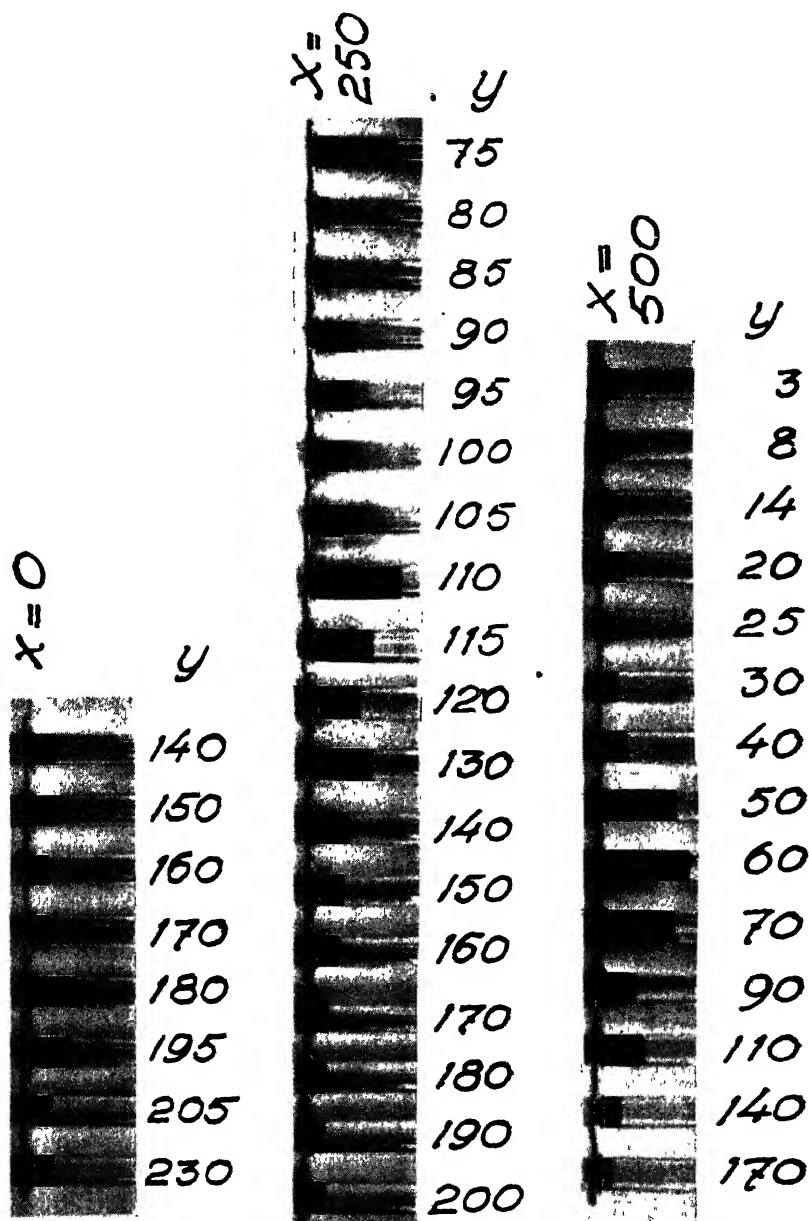


Fig. 2. The volume of floc in three of the profiles.

It is significant that the volumes of floc show much greater differences than the percentages of clay (or clay + silt). This points to differences in the proportion of ultra clay within the clay fractions.

In the last column of table 1 the volume of floc per gram clay is given. (We are ignoring the silt because of the relatively much larger size of these particles.) The values vary between 19 and 90 cc per gram. The differences in these values might be taken as an expression of the relative differences in the number of particles per gram.

The mechanical composition of the profiles, as shown in table 1 and in fig. 2, is undoubtedly to some extent the result of pedologic processes. Thus the great increase in the percentage of clay and especially in the volume of floc at $y=90$ (= B_1 horizon. Cf. following figures) in profile $x=250$ is probably due to an illuviation. (Cf. also $y=20$ in $x=500$ in fig. 2). But the percentages of medium sand show that the parent material could not have been uniform. The great maxima in clay content and in volume of floc in the lower B horizon is probably chiefly the result of geologic processes.

Ferrous iron.

Neither the ground water nor the water extract from any of the samples showed a positive reaction for ferrous iron. But some of the deepest samples from the wet end of the profile series turned blue when the ferricyanide reagent was poured on the soil. The ferrous ions which belong to a relatively strong base were evidently present in the exchangeable condition. These samples were, therefore, extracted with n. 1.0 K_2SO_4 solution and the filtrate titrated with a n. 0.002 bichromate with barium diphenylaminesulphonate as redox indicator. The amounts of displaceable ferrous ions were very small as shown in the following table which gives the number of μ . e. (1 μ . e. = 0.001 m. e.) per 100 grams of soil:

$x =$	0	30	180
$y = 180$	< 8	4	—
$y = 195$	> 8	4	—
$y = 205$	trace	trace	—
$y = 215$	—	—	4
$y = 230$	20	—	—

This ferrous iron occurred well below the gley horizon, but in view of the fact that the trench stood exposed during the summer the figures may not give a true picture of the normal conditions. A thorough investigation of the occurrence and movement of ferrous ions in a profile series of this type during different parts of the year would be very interesting but this would require special precautions and a great deal of work.

Loss on ignition.

The loss on ignition is shown graphically in fig. 3 a and is tabulated in fig. 3 b. Beginning at the wet end we distinguish the following zones within the profile series:

The peat podzol zone. This includes the first four profiles ($x = 0$, $x = 30$, $x = 60$ and $x = 90$) and is characterized by the accumulation of a fairly thick layer of peaty organic matter and by the absence of a bleached A_2 horizon and of a maximum in the organic matter in the mineral soil. The appreciable quantities of organic matter which the loss on ignition as well as the color prove to be present in the upper mineral horizon within this zone indicates that the ground water table sinks below this part of the soil during the drier periods of the year. The bluish gray, true bog soil does, therefore, as already stated, not occur in this series. It seems probable that the permanent submergence within this zone does not extend above a point about $y = 200$. The absence of a bleached horizon (the Bleicherde is here a Schwarzerde) obscures all visual signs of podzolization (eluviation of sesquioxides) and

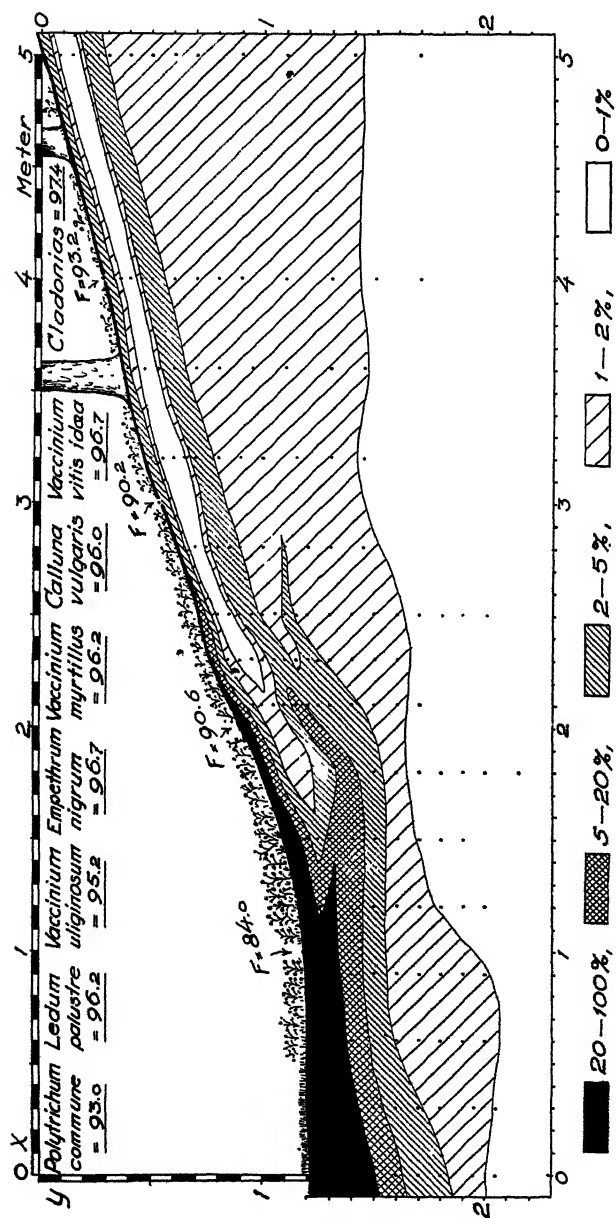
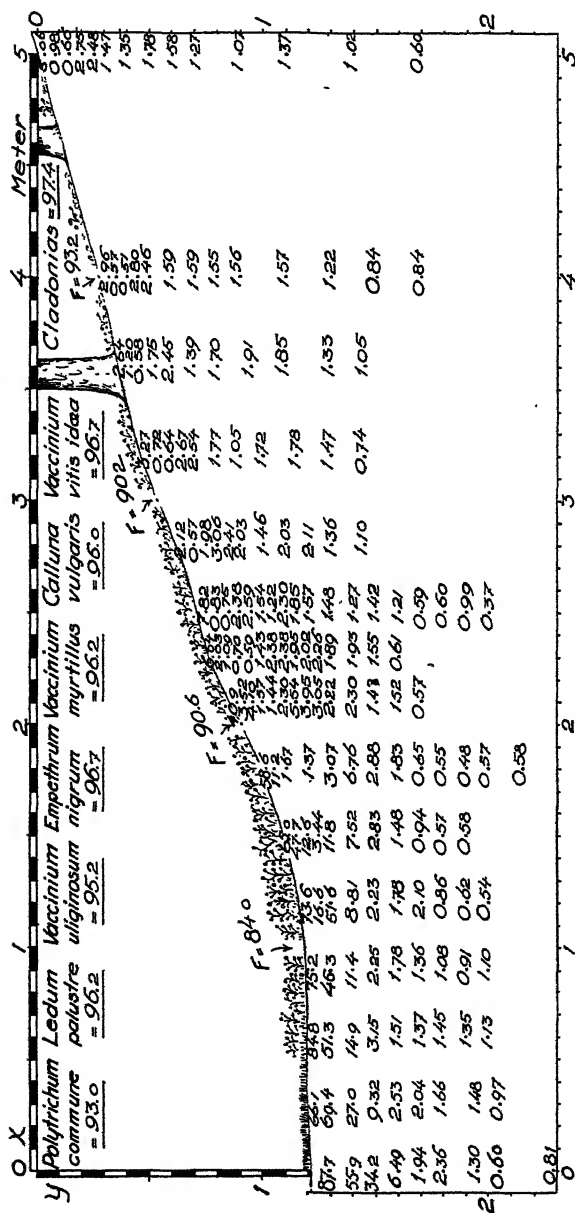


Fig. 3 a. The loss on ignition of the Unden series.



we are for this reason naming this zone the peat podzol zone. This zone constitutes the transition between the true bog soil and the humus podzol and might also be classified, according to TAMM, as a humus podzol with slight accumulation (in the B horizon). But since there is no signs of any maximum in the B horizon — the accumulation (of humus) in the A_2 horizon being greater — it seems better to adopt a term which indicates this fact.

The extent of podzolization can, in this zone, only be determined by analysis. Regarding the distribution of Fe we must, however, be on the lookout for a gley formation (oxidation and precipitation of Fe) not very far below the surface of the soil in this zone.

The humus podzol zone. This zone clearly begins with the fifth profile at $x=120$. Below a minimum of 16.6 percent the loss on ignition attains a maximum of at least 51.6 percent. In the next profile ($x=150$) the corresponding values are 3.44 and 11.8 percent. Both of these profiles are, therefore, in the terminology of TAMM, typical humus podzols with heavy accumulation. In the following two profiles, $x=180$ and $x=210$, the minima in the loss on ignition in the A_2 horizon are 1.37 and 1.44 and the corresponding maxima in the B horizon are 6.76 and 5.54 respectively. The accumulation of humus in the B horizon is, therefore, even here considerable but where the humus podzol merges into the next type of podzol in the hydrologic series, the so called *iron humus podzol*, cannot be decided until an analysis has been made, and then not until we have agreed upon which distinctive factors the definition is to be based.

The iron podzol zone. The beginning of this zone is equally well defined because in the ninth profile at $x=230$, where the humus layer attains only a few cm. in thickness, the minima in A_2 and the maxima in B for the loss on ignition attain values (<1.0 and <3.0 percent respectively) which, on the average, are maintained throughout the rest of the series toward the dry end.

Besides the maximum in the upper B horizon there is a distinct smaller maximum in the lower B horizon running throughout the dry end of the series. This is indicated by the shaded tongue sticking out from the ninth profile ($x=230$) in which the loss on ignition exceeds 2 percent. Beyond $x=280$ the maxima do not attain this value and are, therefore, not graphically indicated. It is doubtful that these maxima represent a second increase in organic matter because they can be accounted for by an increase in the amount of combined water associated with an increase in clay content. Thus in profile $x=250$ this second maximum attains a value of 2.30 percent at $y=110$. A glance at fig. 2 will show that this is the sample which yields a maximum in the volume of flocc. (Cf. also table 1.)

The pH.

The pH of an unsaturated soil such as the podzol is a function of the amphoteric character of its colloidal complex. By determining the pH in water and in a neutral salt solution, or in two different salt solutions, a qualitative study of the amphoteric character of the soil material in the various horizons of the profile may be made. If, for example, one sample of an unsaturated soil has a lower pH in a salt solution than in water whereas another sample has a higher pH in the salt solution than in water, then we know that the latter sample possesses a stronger basoid group (a greater sesquioxide content) and a weaker acidoid group than the former and vice versa. The former yields an exchange acidity which shows that the dominant reaction is a displacement of H ions by the cations of the salt whereas the latter yields an exchange alkalinity, showing that the dominant reaction between the soil and the salt is a displacement of OH ions by the anions of the salt. (MATTSON and GUSTAFSSON 1935, MATTSON and WIKLANDER 1937). For a more detailed account of the theory of such amphoteric interactions the reader is referred to a

paper by MATTSON and WIKLANDER soon to appear in Soil Science).

The pH was determined by the quinhydrone method. Since it is impossible to use the same weight of soil when dealing with humus on the one hand and sand on the other (unless very small weights of sand are taken) we measured the samples by packing the material into a narrow graduated cylinder and used 10 cc. of soil to 20 cc. of water (or solution) for each determination.

In our present work we have determined the pH of the samples in water, in N/1 KCl and in N/100 Na_2SO_4 . The pH of the soil in water and in N/1 KCl are standard values most commonly used. The purpose of determining the pH of the soil in a solution of Na_2SO_4 was to find a simple expression for the amphoteric behavior of the soil.

The advantage of using a dilute solution of Na_2SO_4 is two-fold. In the first place the HSO_4^- ion is only a moderately strong acid and acts therefore as a buffer agent at low pH. By using a N/100 solution this buffer effect is so small that it may be ignored, at least at pH above 4. In the second place the displacement of a monovalent ion, e. g. the OH ion, by a divalent ion, e. g. SO_4^{--} , will be relatively much greater in a dilute than in a concentrated solution when compared to the displacement of a monovalent ion, e. g. the H ion, by another monovalent ion, e. g. Na. The exchange alkalinity should therefore be greater (or the exchange acidity smaller) when an unsaturated soil is treated with a dilute solution of Na_2SO_4 than when the solution is concentrated. This is demanded by the mass law as expressed by the Donnan equilibrium which is formulated as follows:

$$\frac{[(\text{H}^+)]}{(\text{H}^+)} = \frac{[(\text{Na}^+)]}{(\text{Na}^+)}, \quad \frac{[(\text{OH}^-)]}{(\text{OH}^-)} = \frac{V[(\text{SO}_4^{--})]}{V(\text{SO}_4^{--})}.$$

Where the paranthesis stands for activity and the brackets signify that the ion is inside in the micellar solution (adsorbed).

The fact that the divalent ions enter into the equation in the form of the square root of their activity means that a dilution will favor the ingo of the SO_4 and the outgo of the OH ions whereas a dilution will not affect the distribution of the Na and H ions. Fig. 4, which is taken from the work of MATTSON and WIKLANDER¹, shows an experimental verification of this law. The exchange alkalinity attains a maximum in a n. 0.02 Na_2SO_4 solution in the case of this soil which reacts exchange-neutral with NaCl .

The pH in water. Fig. 5 a and 5 b give the pH of the samples in water. The lowest pH recorded is 3.03 ($x = 90$, $y = 130$) and the highest is 5.08 ($x = 500$, $y = 170$).

The most acid zone ($\text{pH} < 3.25$) is found at the foot of the slope, the lowest pH occurring somewhat below the surface (in the H-layer). This position of the zone of lowest pH may be due to several different causes (botanical, microbiological, chemical, hydrological) but we shall not here speculate as to the most probable of these because we shall be in a much better position to solve these and other problems later as the analytical data accumulates.

The next zone in the order of acidity ($\text{pH} 3.25\text{--}3.50$) remains also localized at the foot of the slope where it expands around the zone of greatest acidity. It is significant that not even this second zone extends to the extreme wet end of the series. Since this end is very close to the center of the depression along which water is flowing during the wettest part of the year, we believe this to be due to the influence of the ground-

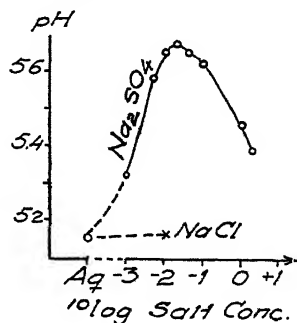


Fig. 4. The pH of the Furudal soil in water and in solutions of various concentrations of Na_2SO_4 .

¹ To be published in Soil Science under the title The laws of soil colloidal behavior: XXI. Amphoteric reactions and the Donnan equilibrium.

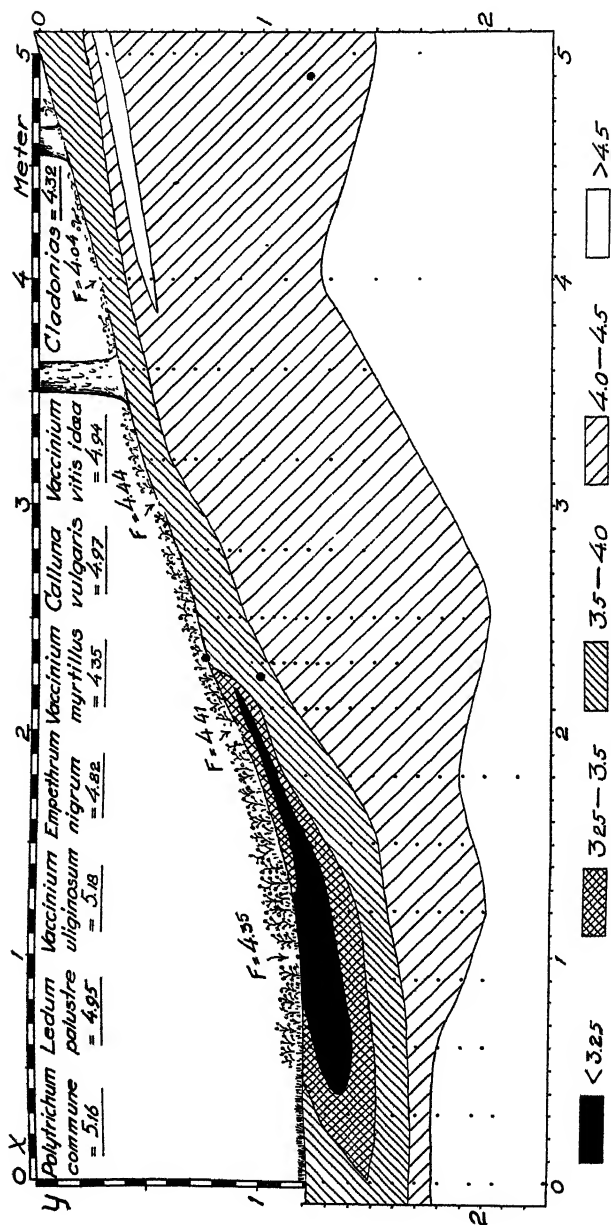


Fig. 5 a. The pH of the Udden series in water.

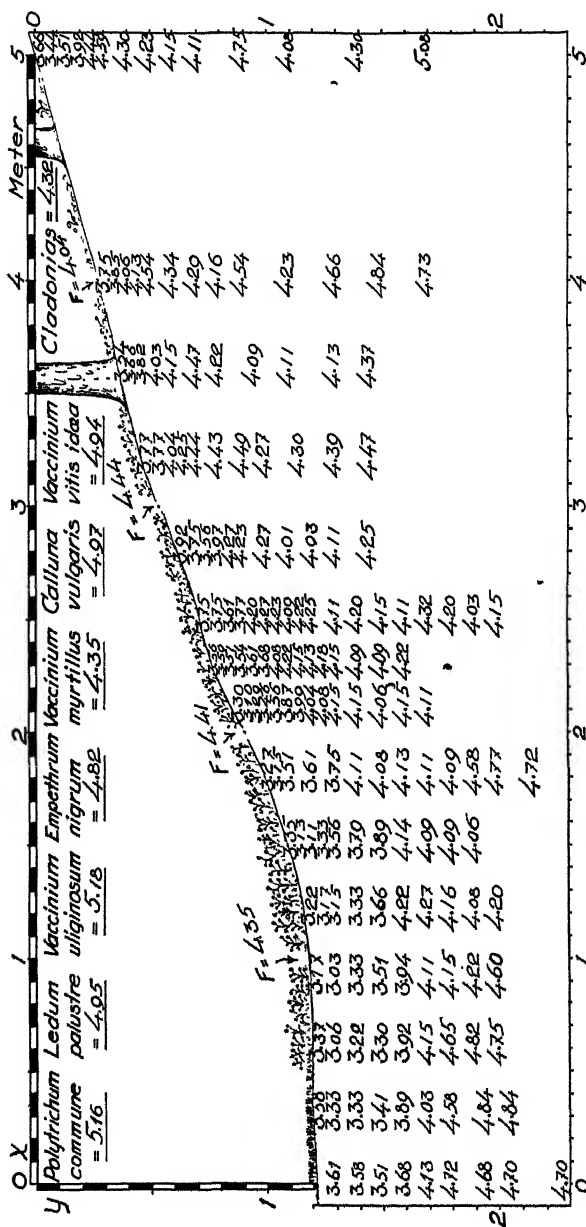


Fig. 5 h. Same as fig. 5 a.

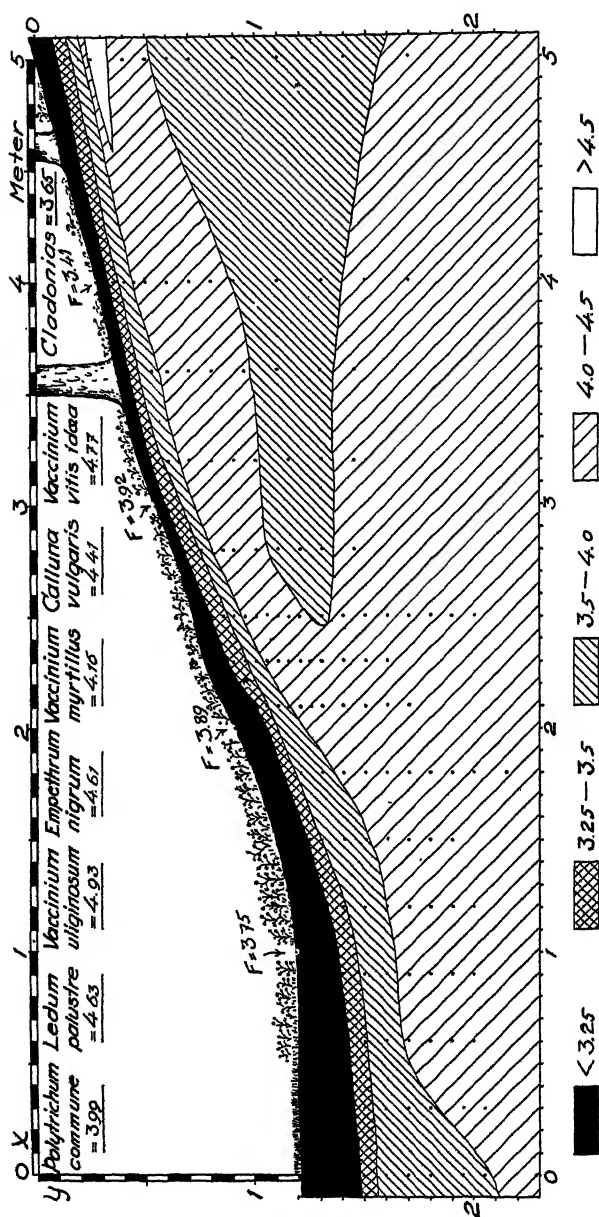
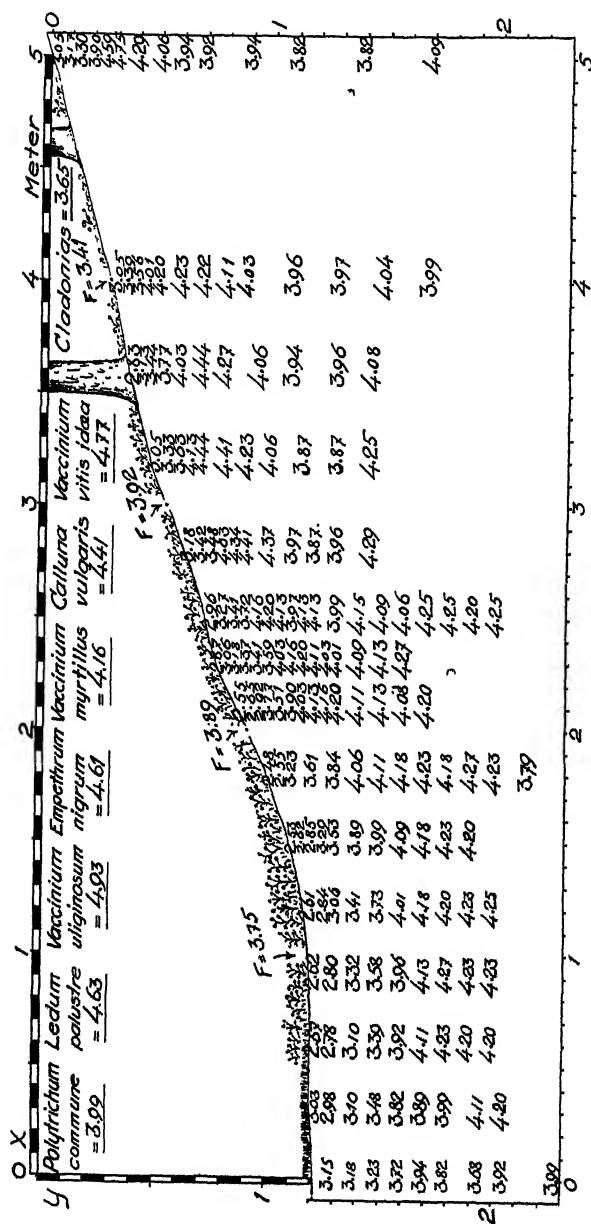


Fig. 6 a. The pH of the Unden series in N/1 KCl.



water. (During a visit early in April 1939 the lowest part of the series was found partly submerged.)

The next zone in the order of acidity (pH 3.5—4.0) begins at the surface of the wet end, passes under the two more acid zones and emerges again at the surface at about $x = 230$, at the very same profile which marks the beginning of the iron podzol (Cf. fig. 3). From here on, it embraces the A horizons of the entire dry end of the series. This zone obviously belongs to the zone of podzolization (cationic solvation and eluviation), at least in the drier parts of the series. In the presence of a high proportion of humus acidoids (as distinguished from soil organic matter) the isoelectric point of the complex is lower and its stability therefore greater. No particular pH can, therefore, be assigned as an upper limit for podzolization.

The next zone (pH 4.0—4.5) covers the major part of the B horizons. In the wet end where the pH increases more rapidly, due to the influence of a higher ground-water table, this zone is quite narrow but under the iron podzol it assumes a depth of a meter or more. This is the zone of the isoelectric precipitation of the cationic sol complex.

The zone of least acidity (pH > 4.5) is found down in the parent material and in the upper B horizon at the dry end of the series. This pedologically significant maximum in the B horizon we ascribe to the precipitation of a gel complex possessing relatively strong basoid properties, that is, a complex possessing a low acidoid/basoid ratio. The maximum is not due to a higher status of strong bases, (as has quite naturally been assumed), because the cationic sol complex precipitated in the B horizon must theoretically be, and has experimentally been found to be unsaturated with bases.

The pH in N/1 KCl. This is shown in fig. 6 a and 6 b. The lowest pH is here 2.48 ($x = 180$, $y = 102$) and the highest 4.75 ($x = 500$, $y = 30$).

The zone of greatest acidity (pH < 3.25) has spread to cover the upper layer of the entire series to a depth varying from about 5 to 30 cm. The zone in which the pH varies between

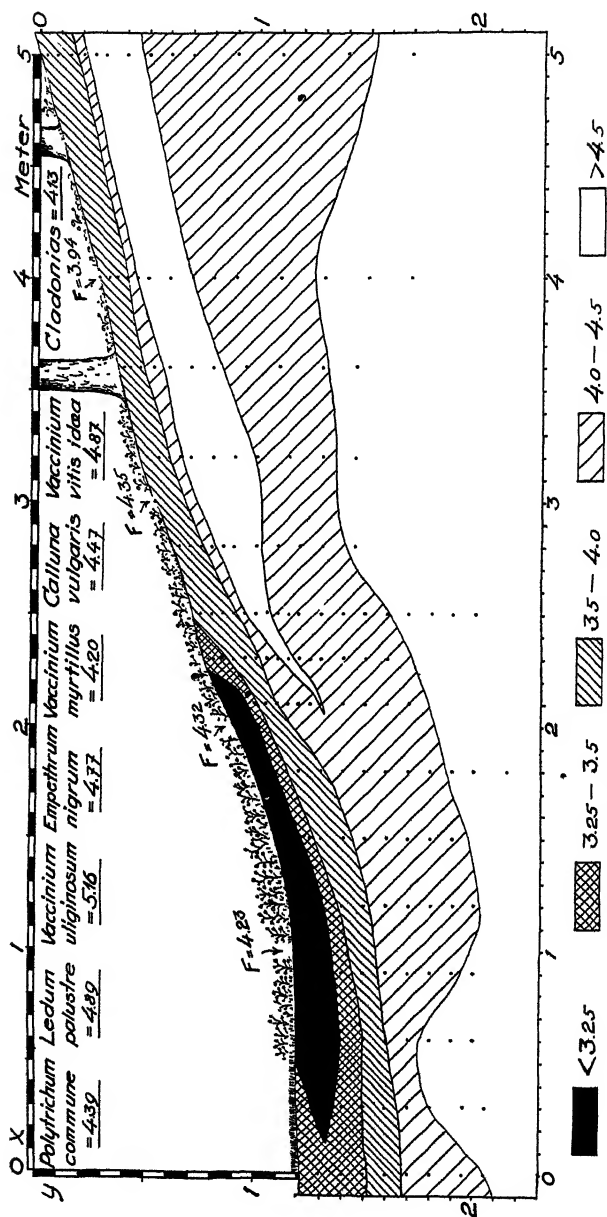
3.25 and 3.5 has also spread to cover the whole series and the zone whose pH is 3.5—4.0 is here not confined to the A horizons but forms a large vedge in the lower B horizons in the dry half of the series. The zone whose pH is 4.0—4.5 covers the remainder of the profiles, down in the parent material as far as investigated, with one single exception, namely, the small vedgeshaped area in the upper B in the dry end where we still find a maximum with a pH > 4.5.

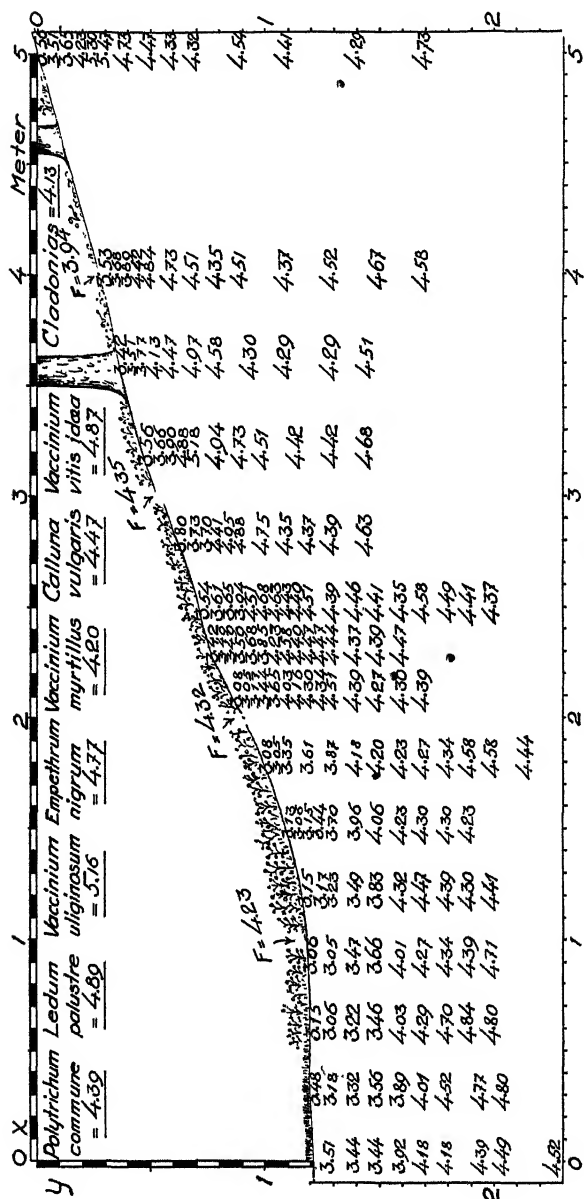
The chief effect of KCl is, therefore, that of an exchange acidity, but this is by no means a universal effect of this salt because several cases of exchange alkalinity may be observed. Thus, it will be noted that the maximum in the upper B in the dry end shows an increase in pH, but we shall discuss this question later in connection with the differences in pH.

The pH in N/100 Na₂SO₄. These values are given in fig. 7 a and 7 b. As in water, the lowest pH remains slightly above 3 but the highest has increased to 5.47 ($x = 500$, $y = 30$).

The gradation in amphoteric properties within the series from the wet to the dry end is strikingly illustrated by a comparison of figures 5 a and 7 a. We note that, on the one hand, the two most acid zones are somewhat enlarged by the effect of Na₂SO₄ whereas, on the other hand, the zone of maximum pH in the upper B horizon is, likewise, greatly enlarged: *In the wet end of the series, where the acidoids dominate, we find an exchange acidity whereas, in the dry end, where the basoids are present in relative abundant proportions, we find an even more pronounced exchange alkalinity.*

It seems very significant that the maximum in pH in the upper B horizon in the dry half of the series very nearly coincides with the iron podzol as based on the loss on ignition (Cf. fig. 3). In the Hügbygget podzol (MATTSON and GUSTAFSSON 1935), which has been extensively studied in this laboratory, we found no such maximum in the B horizons. The B₁ and the B₂ samples yielded an exchange acidity with N/1 Na₂SO₄ whereas the B₃ reacted exchange-neutral. The loss on ignition which was approximately 12, 8 and 4 percent

Fig. 7 a. The pH of the Unden series in N/100 Na₂SO₄.



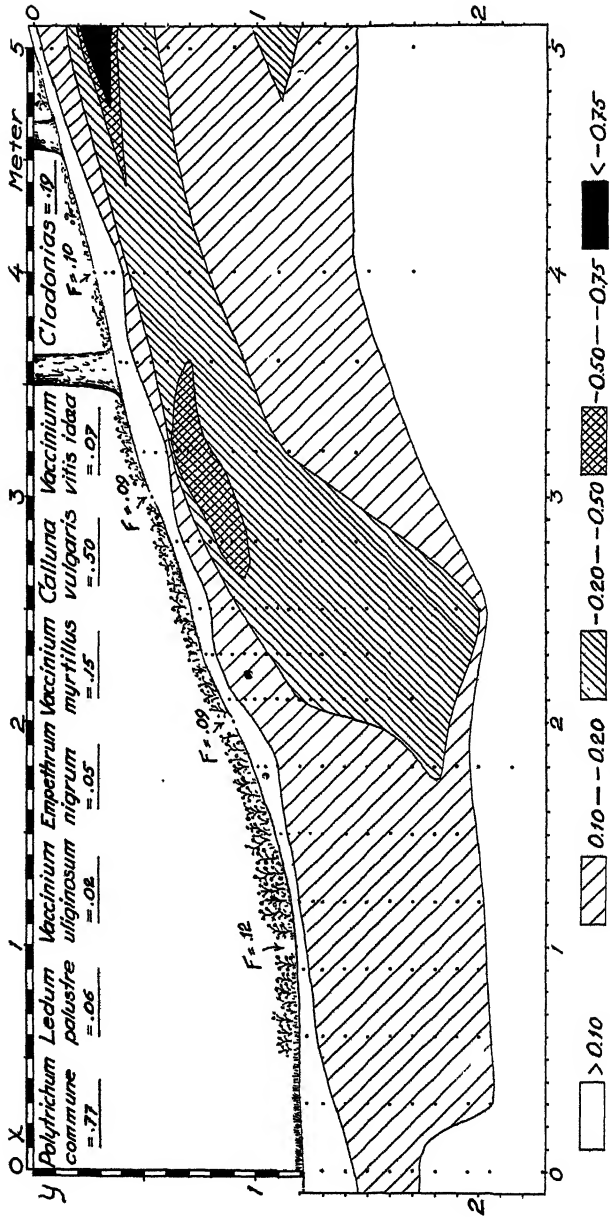


Fig. 8 a. The pH in water minus the pH in N/100 Na₂SO₄ of the Unden series.

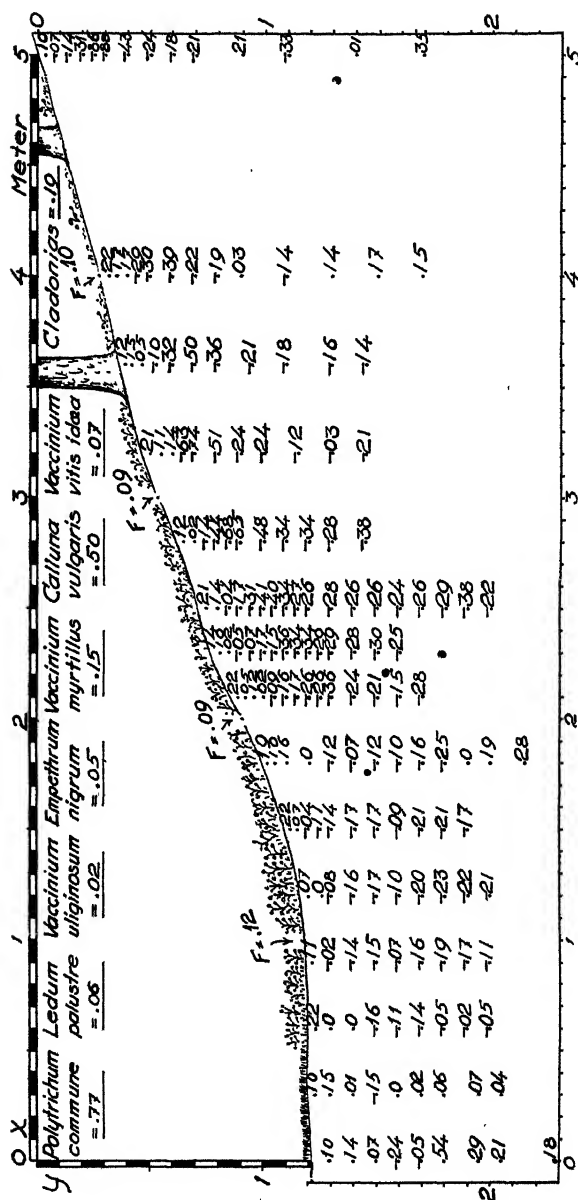


Fig. 8b. Same as fig. 8a.

in the B_1 , B_2 and B_3 respectively, accounts for this difference in behavior. The Håggbygget podzol profile, with its coffee brown B_1 horizon, belongs to the, so called, iron humus type of podzols.

The pH-difference.

The pH in water minus the pH in N/100 Na_2SO_4 . This difference which is shown in fig. 8 a and 8 b varies between 0.54 ($x=0$, $y=180$) and -0.88 pH units ($x=500$, $y=30$).

We have found it convenient to divide the differences into five groups as shown in fig. 8 a. With respect to the amphoteric behavior we thus get three types of zones, namely, (1) a zone of exchange acidity (pH-diff. > 0.10), (2) a zone of approximate exchange neutrality (pH-diff. $0.10-0.20$) and (3) a zone of varying degrees of exchange alkalinity (pH-diff. < -0.20).

The zone of exchange acidity is confined to the A_0 , the A_1 and to the upper A_2 horizons and to the parent material. This can easily be accounted for. The gel complex in the C horizon has not gained any sesquioxides due to illuviation. The proportion of acidoids is relatively high and the complex binds, therefore, primarily the cations of the salt. The same is true of the complex in the A_0 horizon which is largely composed of humus acidoids and of the complex in the A_2 horizon which, by eluviation, has lost sesquioxides.

In the zone of approximate exchange neutrality we have included pH-differences from 0.10 to -0.20 (in single instances even slightly lower). This gives the smoothest picture and in view of the fact that the differences include the errors of two pH determinations the amplitude we have chosen may be justified. This zone covers a large part of the B and G (gley) horizons. These are the horizons in which the gel complex is enriched in basoids; in B through the illuviation of sesquioxides and in G through the oxidation and precipitation of iron.

This zone includes parts of the peaty horizon in the wet

end in which the humus content exceeds 50 percent. The fact that this material does not show pronounced acidic properties but yields, in many instances, an appreciable exchange alkalinity with Na_2SO_4 (even with KCl it reacts in some cases practically exchange-neutral) indicates the presence of considerable sesquioxides.

The zone of pronounced exchange alkalinity falls within the preceding zone and is confined to the dry half of the series with maxima in the upper B, the greatest pH-differences occurring in the profile $x=500$. The downward dip of the zone in the center of the series and the lower maximum in the dry end (at $y=110$) is, at least in part, due to the gley horizon (Cf. second foot note table 1).

The pH in water minus the pH in N/1 KCl. This difference, which is shown in fig. 9 a and 9 b, varies between 1.0 ($x=0$, $y=195$) and -0.18 pH units ($x=280$, $y=90$).

The exchange acidity, which is the dominant reaction in this solution, is greatest in the upper A and in the C horizons, as in the case of Na_2SO_4 . The upper B horizon together with a large area in the gley horizon in the lower middle of the series is characterized by an approximate exchange neutrality. We have limited this zone to cover the amplitude 0.1 to -0.1 in pH-difference in order to be able to mark the isolated spots where an exchange alkalinity might be said to be appreciable. This occurs at four places; two in the upper B horizon (at $x=280$ and $x=500$) and two in the gleyed horizon in the lower middle of the series.

Some of the exchange alkalinity of the gleyed samples in the KCl solution is almost as great as in the Na_2SO_4 solution (Cf. values in $x=90$, $x=120$ and $x=150$). Since the basoid groups in the gley horizon consists chiefly of Fe_2O_3 , we must conclude that this sesquioxide possesses a relatively great power to bind the Cl ion. The oxychloride of Fe seems to be more stable than that of Al whereas the reverse seems to be true of the sulphates (MATTSON 1930).

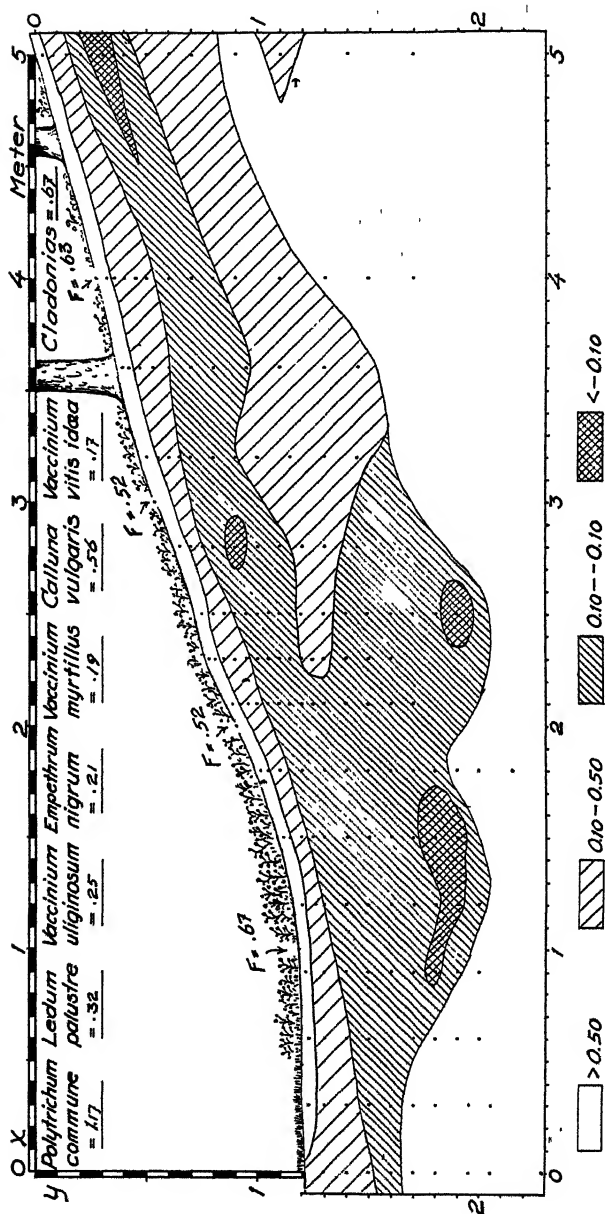


Fig. 9 a. The pH in water minus the pH in N/1 KCl of the Unden series.

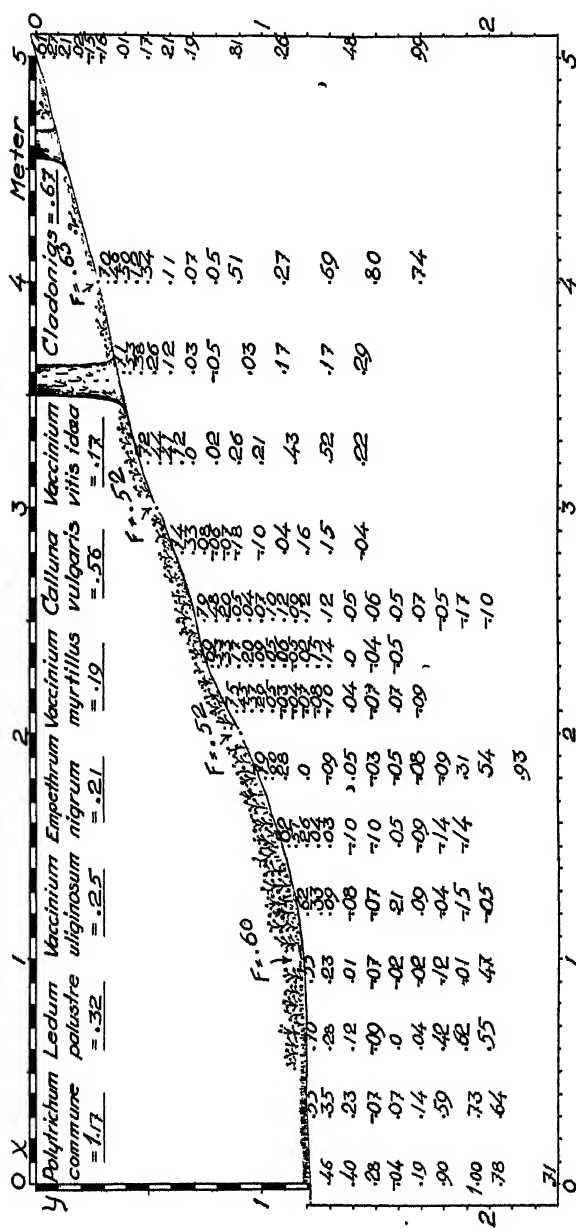


Fig. 9 b. Same as fig. 9 a.

The F-layer and the vegetation.

Concerning the F-layer we note that this is less acid than the H-layer but more acid than the living plant materials. The F-layer in the dry end of the series where the lichens (*Cladonia*) dominate is the most acid in water as well as in the salt solutions. The exchange acidity in N/1 KCl varies between 0.52 and 0.67 pH-units and in N/100 Na_2SO_4 between 0.09 and 0.12 pH-units.

The pH of six of the living plant materials (aerial parts) in water is close to 5.0 (4.82 to 5.18). For the blueberry plant it is only 4.35 and for the several species of lichens it is 4.32. The pH values in the salt solutions place the plants in a different order. Most living plant materials have been found¹ to yield a much smaller exchange acidity than humified material. This is probably due to a low acidoid content and to a relatively high content of basoids in the living plant material. A notable exception to this are the mosses *Polytrichum commune* and the various *Sphagna* which possess a high acidoid content and yield a very high exchange acidity. The heather and the lichens possess apparently also a high acidoid content. The exchange acidity in N/1 KCl of the mosses, the heather and the lichens is 1.17, 0.56 and 0.67 pH-units respectively whereas the exchange acidity of the other plant materials does not exceed 0.32. In N/100 Na_2SO_4 the exchange acidities are all smaller but the values for the mosses and the heather remain quite large: 0.77 and 0.50 respectively.

Amphoteric reaction in the separate profiles.

Since the difference in pH of the soil in water and in the salt solutions is an expression of the amphoteric reaction of the material we can get a good illustration of this behavior in the different horizons of the separate profiles by plotting these differences as in fig. 10 a and 10 b.

¹ By MATTSON and ANDERSSON in a study of various kinds of plant material and its humification which will soon be published.

Many of the curves are irregular and difficult to interpret. But apart from heterogeneities in the geological deposit we have to expect irregularities due to many disturbing factors which operate during the process of soil formation. We need only allude to burrowing animals, to the decay of large roots and to the turnover caused by the falling of uprooted trees. Then, since the pH differences are often small, many of the minor irregularities must, of course, be ascribed to errors. But in all cases where the two curves showed great divergences (Cf. $x = 400$, $y = 50$) duplicate or triplicate determinations were made.

The path of the two curves follow each other in general although the distance between them varies considerably. This latter fact we interpret as an indication of a certain specificity in the affinity between the different ions and the soil material. We have already stated our belief that the adsorption of the Cl ion is relatively greater in the gley horizon, due to the hydrated ferric oxide, and it is known that some soils adsorb the K ions in a nonexchangeable condition.

The most significant thing about the curves are the already discussed maxima in exchange alkalinity (negative values) and in exchange acidity (positive values). In the deep profiles in the dry end of the series we distinguish two of the former and three of the latter maxima (Cf. $x=500$, $x=400$, $x=250$).

There is no doubt that the maxima in exchange alkalinity are expressions of maxima in basoid activity, that the upper of these maxima is due to the illuviation of sesquioxides in the B-horizon and that the lower is due to the gleyed horizon. In support of the last statement it should be mentioned that the maximum in the gley horizon was found to be associated with a maximum of rusty color in the ignited material.

If we compare the curves $x=0$, $x=250$ and $x=500$ with the volume of floc in fig. 2 we find that a decrease in exchange alkalinity (or an increase in exchange acidity) coincides with an increase in the volume of floc. This we take to indicate that the surface of the clay particles are more

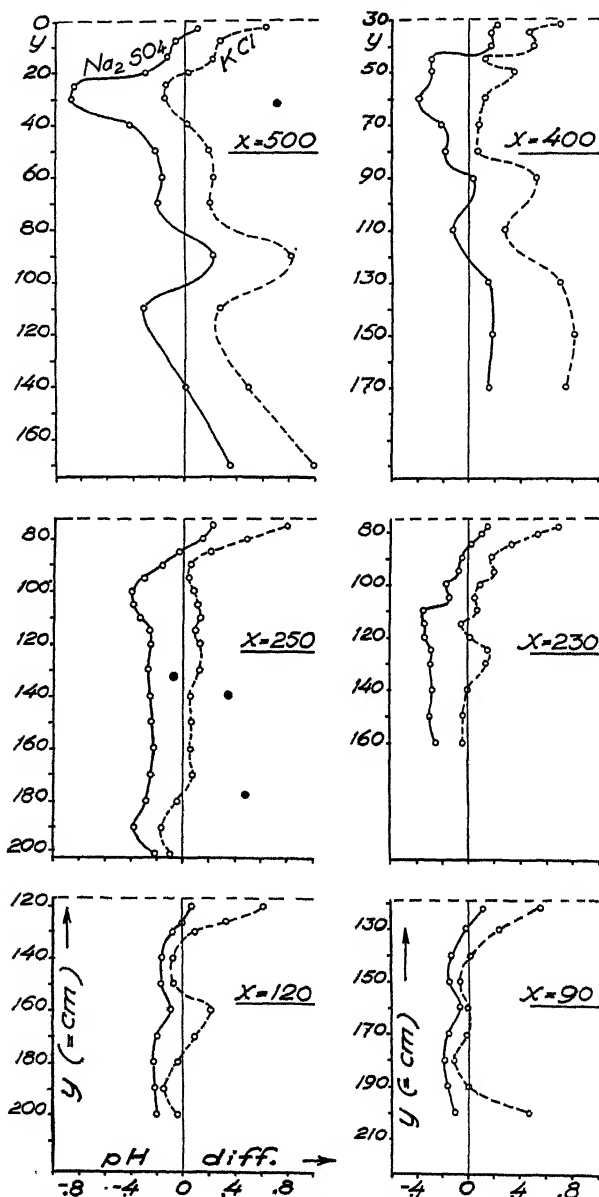


Fig. 10 a. The differences between the pH in water and in the salt solutions (N/1 KCl and N/100 Na₂SO₄) in the various horizons in the Unden series. Positive values = exchange acidity. Negative values = exchange alkalinity.

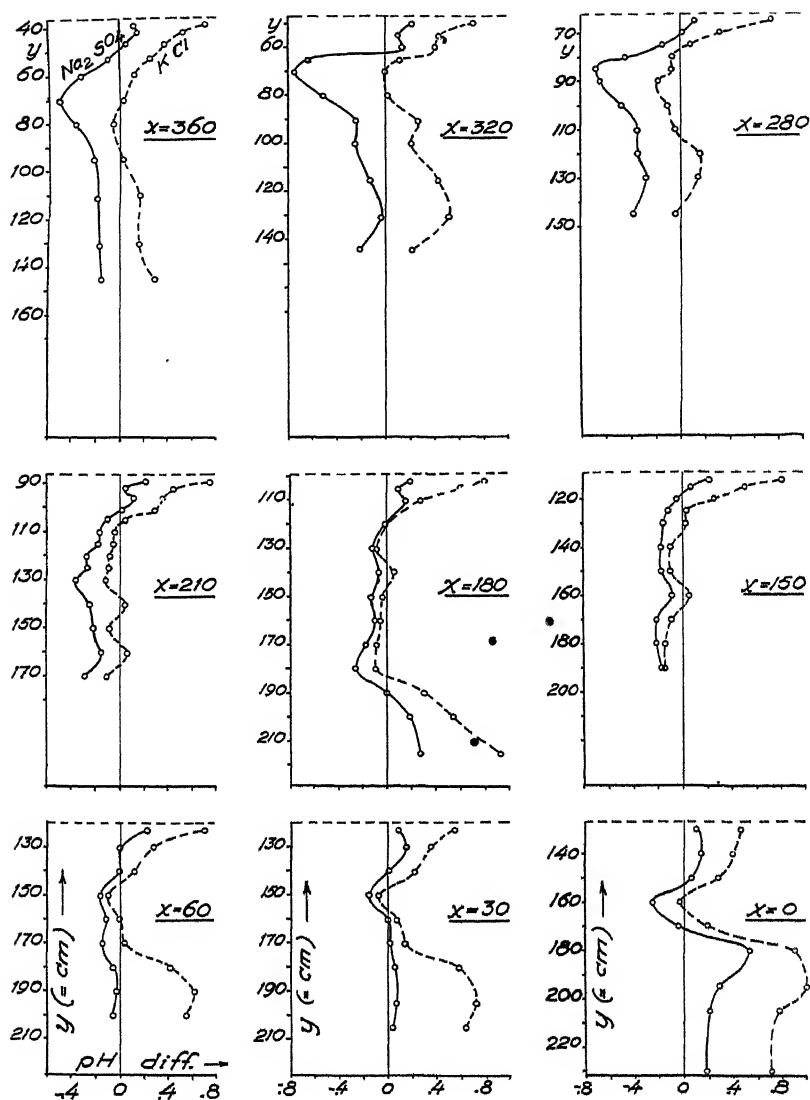


Fig. 10 b. Same as fig. 10 a.

acidoidal than the illuviated gel complex, and that this clay is of geological origin.

Below $x = 230$, that is, in the humus podzol, the exchange alkalinity in the sulphate solution becomes smaller and the maxima become less pronounced. But the basoid group in the humus podzol must have a special affinity for the Cl ion (or a lessened affinity for the SO_4 ion) because, where there is exchange alkalinity or where the exchange acidity is small, the two curves get closer to one another.

In the wet end of the series the two maxima in exchange alkalinity get closer together, overlap and finally merge, which latter has apparently occurred in $x = 0$ and $x = 30$. This must be ascribed to the gley horizon getting nearer the surface in the wet end. It shall be interesting to see what information the chemical analysis will give.

According to the theory of isoelectric weathering the gel complex which precipitates in the lower B-horizon should be more basic than that precipitated in the upper B-horizon where, in uniform parent material, the pH is lower. Why then does not a maximum in exchange alkalinity occur in the lower rather than in the upper B-horizon?

It is true that the humus decreases faster than the sesquioxides in the gel complex as we go from the upper to the lower B-horizon in the ordinary podzol profile, thus supporting the theory, but this does not necessarily mean that the complex in the lower B-horizon must be more basic. The complex on the surface of the primary silicates is very acidic due to a high proportion of silicate groups. If the quantity of the cationic sol complex which is precipitated in the lower B is small it cannot, no matter how basic, outweigh the effect of the acidoid groups already present on the surface of the primary minerals, especially if this surface is large (= a high clay and ultra-clay content). The pH of the samples in water (Cf. fig. 5 b), which may be considered as the ultimate pH (the material being practically unsaturated), show indeed quite generally a decrease between the upper B and the gley hori-

zons. This we believe to be related to the primary clay minerals or, more strictly, to the products of hydrolysis on the surface of these minerals.

The position of a maximum in exchange alkalinity and exchange acidity in a soil profile must be governed by the activity ($= \text{quantity} \times \text{intensity}$) of the basoid and acidoid groups respectively. The effect of the quantity factor will outweigh the effect of the intensity factor if the former is in excess. The amount of illuviated material is usually greatest in the upper B-horizon and this accounts, to a large extent, for the maximum in exchange alkalinity in this part of the profile.

In the younger podzols the accumulation of sesquioxides occur, according to AALTONEN (1939), deeper down in the profile and ought, therefore, to give a maximum in exchange alkalinity at a lower level. The method should prove useful in this type of study.

The growth of the podzol profile according to Aaltonen.

In his latest valuable contribution to the problem of the development of the podzol profile AALTONEN (1939) comes to conclusions which, with one exception, seem to be in perfect agreement with the theory of isoelectric weathering.

We agree with what he says about the lowering of the pH as a result of a lowering of the isoelectric point of the cationic sol complex. But when he then concludes that: »Obgleich der Komplex also bei sich fortsetzender Auswaschung saurer wird, dringt er auch tiefer ein, bevor er ausgefällt wird», we think that he confuses cause and effect. The sol complex in the A horizon gets more acidic the older the profile because of the progressive eluviation of sesquioxides. These accumulate in the B-horizon which becomes correspondingly more basic. If the sol complex which precipitates in the B-horizon grows more acidic with the age of the profile and, therefore, lowers the pH in this horizon, the complex (the cause) cannot be

caused to penetrate lower by the reduced pH (the effect). To penetrate below a complex with a higher isoelectric point would mean that the complex would first have to cross its own isoelectric barrier.

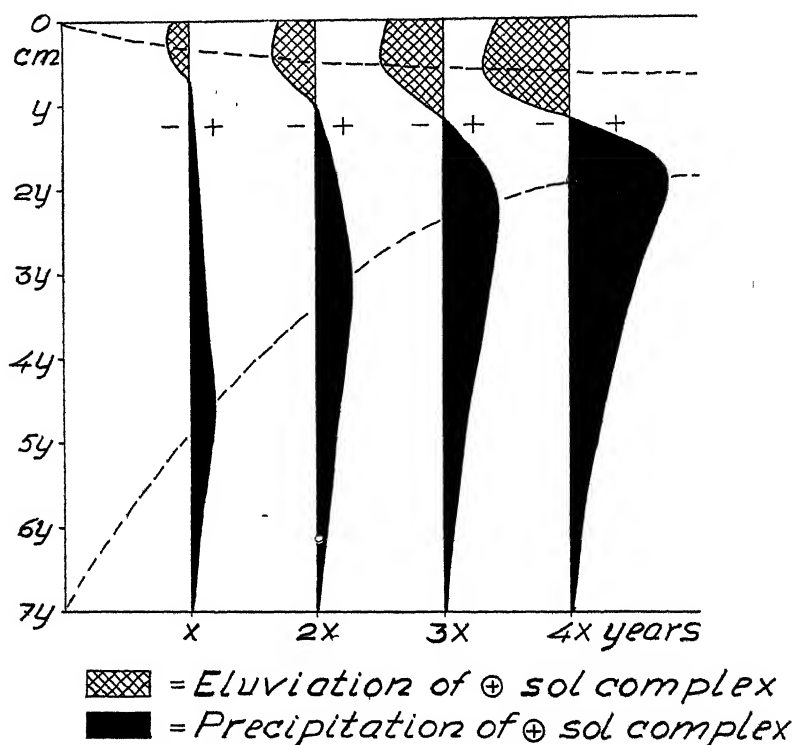


Fig. 11. The development of the podzol profile according to AALTONEN, modified by the authors.

The sol complex must, as a matter of fact, precipitate before it reaches the pH at which it is isoelectric, that is, a cationic sol complex must be precipitated on the acid side of its isoelectric point and this is exactly why we can accept all other conclusions arrived at by AALTONEN: The B-horizon grows from the bottom up and the A-horizon grows downward from the surface.

This is strikingly illustrated by AALTONEN in his fig. 28. We believe, however, that the lines indicating the upward and the downward growth of the B and the A horizons respectively would more nearly correspond to the facts if they were drawn in the form of curves asymptotic to the abscissa.

In fig. 11 we are illustrating the conception of AALTONEN of the development of the podzol profile with age, modified in accordance with our interpretation and definition of the process.

On the basis of our definition the podzol A-horizon constitutes that horizon in which a cationic solvation and eluviation of colloidal material more basic than the original parent gel complex takes place. In the upper A-horizon (A_1) the solvation and eluviation is probably less intense due the protective action of a high content of humus acidoids (= low I. E. P.). This would lead to a maximum in the A horizon as indicated in the figure. The transition from the A to the B horizon cannot be sharp but must be looked upon as the resultant of the two processes, solvation and precipitation, which are different for different materials and which therefore overlap.

Summary.

One hundred and ninety samples from a hydrologic series of fifteen podzol profiles have been studied with respect to the loss on ignition, the pH and the amphoteric reactions.

The series was obtained in a five meters long trench which was dug from a wet depression into a dry sandy hill exposing all transitions from the humus podzol to the iron podzol.

The pH was determined in water, in N/1 KCl and in N/100 Na_2SO_4 . The pH in water minus the pH in the salt solution is taken as an expression of the amphoteric nature of the soil.

The results are presented in the form charts.

The analytical work will be continued and additional data will be presented later.

Resumé.

Mellan en sumpig dalgång och en torr sandhög omkring 1 km söder om sjön Unden har grävts en 5 meter lång grop blottande en s. k. hydrologisk podsolserie (fig. 1).

Från denna har från 15 profiler 190 jordprov inklusive förna och markvegetation insamlats och undersökts med hänsyn till mekanisk sammansättning, glödförlust samt pH i vatten, i N/1 KCl och i N/100 Na_2SO_4 .

Den mekaniska analysen visar att materialet till största delen utgöres av mo (tabell 1). Flockvolymen visar starka variationer mellan grovler och ultraler (fig. 2).

Glödförlusten utvisar ett utpräglat maximum av organisk substans, förutom i humusämnesskiktet, även i den övre rostjorden. Detta senare maximum förekommer ej under torven. Övergångarna mellan torv, humuspodsol och järnpodsol framträda skarpt (fig. 3).

pH-värdet i vatten varierar mellan 3.03 och 5.08 och är lägst i humusämnesskiktet vid slutningens fot och högst i den övre rostjorden i den torra ändan av serien samt i de djupare avlagringarna (fig. 5).

pH-värdet i N/1 KCl (2.48 till 4.75) är i den våta humusrika ändan av profilserien betydligt lägre än i vatten. I rostjorden är pH-värdet i KCl ofta något högre än i vatten (fig. 6).

pH-värdet i N/100 Na_2SO_4 (3.05—5.47) är även det något lägre än pH-värdet i vatten i den humusrika jorden, men är däremot i rostjorden mestadels betydligt högre (fig. 7).

Differensen mellan pH i vatten och pH i en saltlösning är ett uttryck för jordens amfotära egenskaper. Är pH-värdet lägre (= utbytesaciditet = positiva differenser i fig. 10) i saltlösningen, så tyder detta på ett högt acidoid/basoid-förhållande i markkomplexet. Är däremot pH-värdet högre (= utbytesalkalinitet = negativa differenser i fig. 10), i saltlösningen, så tyder detta på ett lågt acidoid/basoid-förhållande. I podsolprofilens utlakningsskikt (råhumus och blekjord) överväga aci-

doiderna (kisel syra och humus), medan anrikningsskiktet (rost-jorden) är rikast på basoider (järn och aluminiumoxider). I det förra få vi därför utbytesaciditet (särskilt i KCl-lösning) och i det senare utbytesalkalinitet (särskilt i Na_2SO_4 -lösning) (fig. 8, 9 och 10).

References.

- AALTONEN, V. T., 1939. Zur Stratigraphie des Podsolprofils II. — *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae*, vol. 27. 4, p. 1—133.
- ANDERSON, M. S. and MATTSON, S., 1926. Properties of the colloidal soil material. — U. S. Dept. of Agr. Bul. 1452.
- MATTSON, S. and GUSTAFSSON, Y., 1935. The electro-chemistry of soil formation: I. The gel and the sol complex. — *Lantbrukshögskolans Annaler*, vol. 4, p. 1—54.
- MATTSON, S. and WIKLANDER, L., 1937. The equi-ionic point and the point of exchange neutrality of soils. — *Lantbrukshögskolans Annaler*, vol. 4, p. 169—189.
- MATTSON, S., 1930. The laws of soil colloidal behavior: III. Isoelectric precipitates. — *Soil Science*, vol. 30, p. 459—495.
- ROBINSON, G. W., 1936. Soils, their origin, constitution and classification. 2. Ed. London.
- TAMM, O., 1931. Studier över jordmånstyper och deras förhållande till markens hydrologi i nordsvenska skogsterränger. — *Medd. från Statens Skogs-försöksanstalt*, vol. 26, p. 163—408. (52 pages of German summary).

The Metabolic Behaviour of Phosphorus. II. Balance Sheets of Phosphorus in Full-grown Rats Fed with Tri-stearine and Sodium Phosphate.

By A. WESTERLUND.

From the Physiological Institute.

The present investigation is a continuation of the experiments with ammonium phosphate (1939), which is here replaced by sodium phosphate. Like the previous one, it intends to present complete balance sheets of phosphorus at different levels of intake, and of calcium as well, and, furthermore, to find the factors which control the elimination of these elements with the excreta.

The experimental animals, other individuals than in the previous experiments, were five full-grown male albino rats. They are referred to in the following by small letters: a, b, etc. They all belonged to our own colony and had received our stock food since the weaning. Their body weights at the end of every 24-hour experimental period are given in Tab. 1.

Tab. 1.

The body weights of the rats in kg.

a	b	c	d	e
.268	.279	.264	.247	.287
.272	.280	.258	.241	.288
.273	.280	.258	.235	.287
.265	.275	.259	.236	.286
.252	.272	.260	.237	.287
.250	.265	.260	.237	.285
.263	.275	.260	.239	.287

The experimental period covered ten days, the first four forming a preparatory part, during which the animals accustomed themselves to the experimental diets, their food intake being recorded and adjusted. The actual test period, which refers to the income and outgo of the food ingredients recorded, began with the fifth day and lasted six days. The metabolic cages and the general treatment of the animals prior to the experiments were the same as in the previous investigation.

The experimental diets. The composition of the basal food and the preparation of the food mixtures were likewise the same as in the previous experiments, with the exception of the salt mixture. This lacked sodium, since NaCl had been replaced by H_4NCl . The phosphate preparation had been prepared by KAHLBAUM in Berlin, according to S. P. L. SÖRENSEN for enzymatic studies, and had a labelled composition of $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2 \text{ aqua}$. It was considered appropriate to give the different food mixtures the same percentage of sodium. Therefore, it was tried to equalize the sodium content by adding calculated quantities of sodium bicarbonate (NaHCO_3).

In the following the food mixtures are referred to by capital letters, in such a way that the rat »a» received the food mixture »A», rat »b» food mixture »B», etc. The c and d animals received the same food mixture, viz. C. As to the starch, it should be noted that this ingredient originated from a special batch in food mixture E.

As in the previous experiments with ammonium phosphate the experimental diets were characterized by the presence of tri-stearine as the sole fat, and by the lack of vitamins A and D.

The method of chemical analyses were the same as in the previous investigation. Objects of direct analysis were only Ca and P, the percentages of other ingredients being obtained by calculation. As is seen in the following, the accuracy of the data for the consumption of tri-stearine and Na cannot be considered sufficient in the present case.

The analyses obtained for P, reduced to a dry basis, are given in Tab. 2,

Tab. 2.

The percentages of P.

	A	B	C	E
Phosphate added, g	1.40	2.70	4.00	5.40
Weight, g	323	320	339	329
P-percentages	.0725	.1471	.2140	.3226
	.0687	.1484	.2017	.3190
		.1493	.2046	.3243
Means	.07060	.14827	.20677	.32197

which also shows the phosphate additions and the dry weights of ready-made food mixtures.

As the starch in food mixture E originated from another batch than the rest, the analyses belonging to this mixture are excluded from the following discussion. If the P-percentages of food mixtures A, B and C are adjusted by regression to the same amount of phosphate added, and this new set of P-percentages is put through an analysis of variance, the result is that the variation between the food mixtures cannot be considered significantly wider than within them. The accuracy of the original P-percentages is illustrated in Fig. 1.

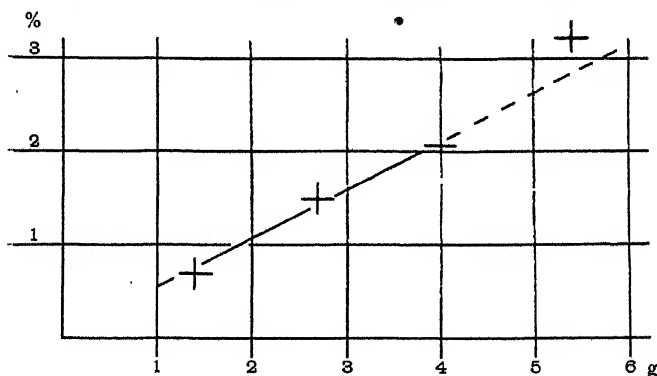


Fig. 1. The regression of the means of P-percentage in the individual food mixtures upon the phosphate additions. The highest value, which refers to food mixture E, is not represented equally well as the other by the regression line.

Fig. 1 shows, that the regression line represents the three observations in a satisfactory manner. Only the P-percentage of food mixture E shows a considerable deviation.

Turning now to the percentages of Ca (Tab. 3), we find that the food mixture E — behaving in the same way as its P-

Tab. 3.

The percentage of Ca.

A	B	C	E
.0134	.0141	.0138	.0179
.0133	.0130	.0146	.0177
.0133	.0142	.0148	.0181
.01333	.01377	.01440	.01790

percentages — must be regarded as belonging to a special collective. Omitting the values of this mixture, the analysis of variance shows that the variation between the remaining three mixtures is not significantly wider than within them.

As neither the P-percentages nor the Ca-percentages present a wider inter-class than intra-class variation, additional controls as to the reliability of the chemical analyses may be considered unnecessary.

The Elimination of Phosphorus.

The renal elimination. The previous investigation of the metabolic behaviour of phosphorus from ammonium phosphate showed that the renal elimination of this element was the sole variate that presented a clearly significant relation to any-one of the experimental factors, viz. the simultaneous ingestion of phosphorus. As the same result may be expected in the present experiments, we begin the numerical analysis with urinary phosphorus as the dependent variate. The amounts of this phosphorus for periods of 24 hours are given in Tab. 4.

Only one value can be given for every rat. It refers to one sixth of the total quantity of urine from all six experimental days, consequently representing a mean value, the

Tab. 4.

Mean values of urinary phosphorus in the individual rats during 24 hours (cg).

a	b	c	d	e
1.618	1.792	2.907	3.419	3.498

numerical structure of which is not known. A glance at the Table shows that there is a considerable variation between the animals. Our first task is to find concomitant factors which control the urinary elimination in question.

Owing to the small number of experimental animals it is not possible to apply the usual method of calculating net regression coefficients, after successive introductions of the variates to be examined, into the system of observation equations. Already after an introduction of three variates the number of degrees of freedom has been reduced to one. Therefore, another method has been elaborated. It consists in the determination of gross coefficients for binary relations and subsequent calculations of residuals.

The first concomitant factor tested in this way with regard to a covariation with the urinary phosphorus, was the corresponding intake of phosphorus. The consumption of this element is given in Tab. 5.

Tab. 5.

Phosphorus consumption (cg).

a	b	c	d	e
.97	2.03	2.07	2.21	3.83
1.00	2.06	2.23	2.36	4.19
.95	1.62	2.19	2.25	4.25
.64	1.29	2.65	2.83	3.45
.76	1.82	2.61	2.73	3.96
.85	1.51	2.83	2.87	3.28
.862	1.722	2.430	2.542	3.827

The calculation of the gross coefficient for the regression of the urinary phosphorus upon this consumption came out with an insignificant value which was only 3.5 times its mean error,

indicating that odds are only 94 against 6 for the coefficient to exceed zero. The corresponding values for the bivariate relation in question is illustrated in Fig. 2, which also shows the calculated regression line.

The poor significance of the regression coefficient obtained may be due to its character of gross coefficient, i. e. to the

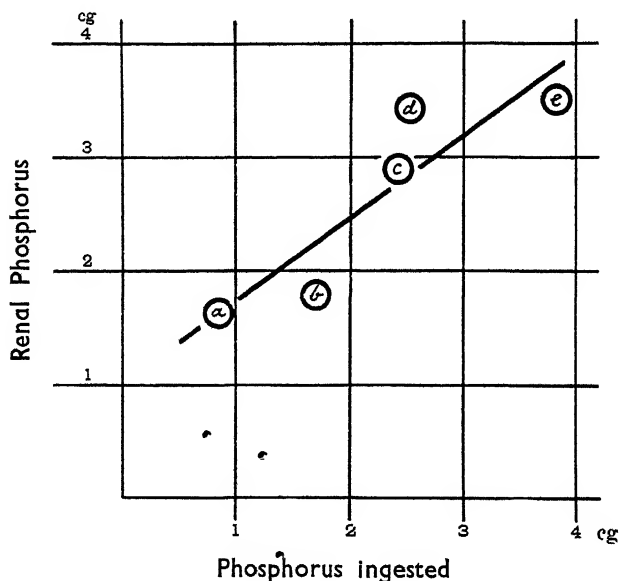


Fig. 2. The correspondence between phosphorus consumption and urinary phosphorus elimination. The regression coefficient is $.73 \pm .21$.

existence of other variates which share the control of the urinary output of phosphorus with the consumption of this element. A method of finding these additional variates may be to calculate residuals, i. e. to remove the influence of the phosphorus ingestion from the urinary phosphorus elimination by reducing its values to a common value of this ingestion, e. g. their mean value (2.277 cg), and, subsequently, testing the new variates with regard to their covariation with the residuals.

In doing so we found one variate only, the regression coefficient of which may be considered sufficiently significant for our purpose, viz. the fecal elimination of *calcium*. It is 4 times its mean error with the corresponding probability in the vicinity of .03. — The procedure is repeated once more by removing the influence of the fecal calcium, i. e. by reducing the residuals to a common value of this variate, e. g. the mean (1.663 cg). Testing these new secondary residuals with regard to a covariation with other concomitant factors, we found none of them present a tendency to covariation of reasonable sign or with a significance to be spoken of.

Consequently, the test method used gives the net result that two factors present a tendency to covariate with the urinary phosphorus, viz. the phosphorus consumption and the fecal elimination of calcium. If these two variates are introduced into the system of observation equations, and their net regression coefficients are calculated in the usual way according to the principle of least squares, the coefficient of the phosphorus consumption attains a value which is 14 times its mean error, whereas the coefficient for the fecal calcium is only 6.5 times its mean error. The significance of the former is quite valid, while that of the latter is more objectionable, as the corresponding probability is in the region of .02, indicating odds scarcely 98 against 2 for the coefficient to exceed zero.

If now — by the aid of the last-mentioned regression coefficient — the values of urinary phosphorus are freed from the influence of the fecal calcium elimination, a correspondence between the residuals and the phosphorus consumption is obtained, which is illustrated in Fig. 3.

The regression line is practically a diagonal, as the regression coefficient of a diagonal (1.00) does not significantly differ from the regression coefficient actually calculated (.84). It cuts the y-axis at a value of .37 cg. The conclusion to be drawn from this is that above a basal value of .37 cg the whole quantity of phosphorus consumed is recovered in the corresponding urine.

Now the question arises how the covariation observed between the fecal elimination of calcium and the renal excretion of phosphorus should be interpreted. The physiological mechanism which makes it possible for the intestines, by way of calcium elimination, to control the kidneys in their excretion of a

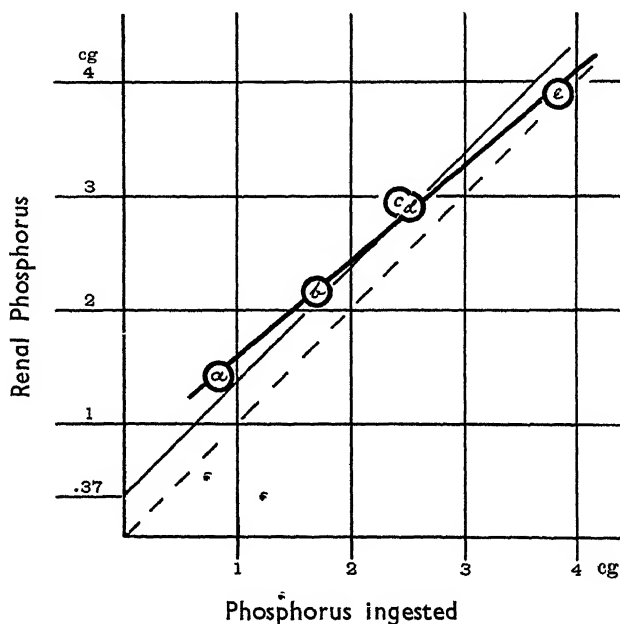


Fig. 3. The regression of urinary phosphorus upon the phosphorus consumption, other influencing factors assumed to be constant. The net regression coefficient of fecal calcium is $.85 \pm .13$; that of phosphorus consumption $.84 \pm .06$. The graph shows that above a basal value of 3.7 mg, all phosphorus consumed is eliminated quantitatively with the urine.

different element, is not obvious. But this interpretation is not the only possible one. It is much more probable that our covariation is due to a purely accidental coincidence and not to a causal relation. Therefore, it is not necessarily true that it is the values of fecal calcium as such that control the values of urinary phosphorus. It is equally well possible that this influence is exerted by another factor having the peculiarity

of being closely related to the fecal calcium in these experiments. This other factor is probably the simultaneous consumption of sodium, but the discussion of this possibility will be deferred to a subsequent paragraph.

Before closing this discussion we once more call attention to the fact that the significance of the regression coefficient, now under consideration, is rather poor. This is further strengthened by an analysis of variance of the triple covariation in question (Tab. 6).

Tab. 6.

The significance of the triple covariation.

Variance due to	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean square	$\frac{1}{2}$ log. nat.
Regression formula	2	3.14567	1.5728	2.529
Deviations	2	.03026	.01513	.265
Total	4	3.17594	$z = 2.26$ $z_{\min.} = 2.30$	

The significance of the difference (z) satisfies liberal demands only. However, two good reasons favour the opinion that some other factor, closely related to the fecal calcium elimination, shares the control of the renal excretion of phosphorus with the consumption of this element. In the first place, the introduction of the fecal calcium into the system of the observation equations increases the significance of the phosphorus consumption from 3.5 to 14 times its mean error, the fecal calcium being unique in this respect. Secondly, the additional factor in question asserts itself to a much greater extent when the source of phosphorus is sodium phosphate than when it is ammonium phosphate.

The fecal elimination. The experimental data of the intestinal elimination of phosphorus are given in Tab. 7.

The pertaining analysis of variance (Tab. 8) shows that the variation between the animals is significantly wider than within them. However, this result depends exclusively on the animal

Tab. 7.

Fecal phosphorus elimination in the individual rats (cg).

a	b	c	d	e
.26	.30	.52	1.33	.47
.21	.37	.50	1.32	.27
.14	.26	— ¹	.85	.72
.48	.47	.41	.51	.66
.15	.35	.16	.69	.47
.22	.31	.16	.69	.33
.243	.343	.350	.898	.487

Tab. 8.

Analysis of variance of fecal phosphorus elimination.

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	S. D.	log. nat. 10 S. D.
within the animals	24	.99188	.0413	.2033	.709
between the animals	4	1.57425	.3936	.3936	1.836
total	28	2.56613		$z = 1.13$ $z_{\min.} = .51$	

d, for if its values are excluded from the analysis of variance the significance of the difference (z) is lost.

Also in this case it is our task to find the factors which control the fecal elimination of phosphorus. For this purpose we followed the same procedure as above, viz. a successive testing of available concomitant factors as to their covariation with the elimination of fecal phosphorus. In doing so we found that the rat d holds a unique position from many different points of view: together with the most profuse elimination of fecal phosphorus it had the smallest body weight, the greatest food consumption and the greatest elimination of calcium with the urine as well as with the feces. This coincidence must be considered purely fortuitous, as the covariation between the factors enumerated and the fecal phosphoric loss

¹ Lost.

does not show any significance, when the values of alle five animals are included in the calculation.

The same result is obtained, when the values of animal d are excluded, and is equally true of the inter-class as well as of the intra-class variations. The sole factor which shows a possible tendency to covariation is the phosphorus consump-

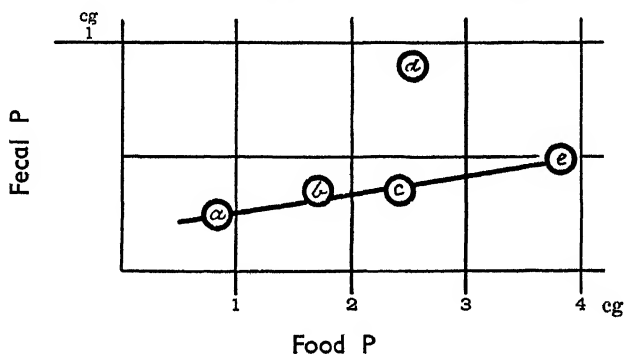


Fig. 4. The correspondence between the phosphorus consumption and the fecal phosphorus elimination. If the values of animal d are excluded, the regression coefficient takes the value of $.078 \pm .012$ with a corresponding probability in the vicinity of .02.

tion, but the regression coefficient is only 6.5 its mean error and cannot be considered highly significant. The correspondence in question is illustrated in Fig. 4.

The Elimination of Calcium.

The renal elimination. The experimental data are shown in Tab. 9. They have been obtained in the same manner as for urinary phosphorus and signify means from six days. Table 9 also includes means for the fecal calcium, and the urinary calcium in per cent of the total calcium elimination.

Tab. 9 shows clearly the singularity of animal d, already mentioned. While in the other animals the participation of the kidneys in the total elimination of calcium lies between 1.5 and 3 per cent, the animal d secretes up to 11 per cent

Tab. 9.

Individual means for urinary calcium during 24 hours (cg).

	a	b	c	d	e
Urinary Ca	.029	.020	.048	.291	.019
Fecal Ca	1.918	1.215	1.636	2.362	1.183
Total	1.947	1.235	1.684	2.653	1.202
Urinary Ca in per cent of total	1.5	1.6	2.9	11	1.6

by its kidneys. The cause of this pronounced calciuria cannot be given. Probably the condition was temporary and may depend upon influences from the endocrine sphere. Impaired muscular activity, sometimes met with in aged animals of our colony, co-existent with a calciuria, was not observed in this case. As the analyses of urinary calcium was not completed before a lapse of considerable time after the termination of the experiment, we found no reason to kill the animal in order to perform a minute post mortem examination.

Using the same method as in previous treatments we found none of the recorded concomitant factors showing a significant covariation with the urinary elimination of calcium, provided that the numerical analysis covered all five animals. The same result was obtained when animal d was excluded.

The fecal elimination. The experimental data of this variate are given in Tab. 10.

The analysis of variance shows that the inter-class variation is significantly wider than the intra-class variation, also in this case however the result depending upon the values of animal d only.

A testing, performed in the same way as before, points to the conclusion that none of the concomitant variates recorded exerts an unobjectionable influence upon the fecal elimination of calcium. In this case, however, there is really one of them which shows a certain tendency to covariation,

Tab. 10.

Fecal elimination of calcium (cg).

a	b	c	d	e
1.16	.88	1.29	1.95	1.05
1.76	1.46	1.58	2.42	.89
2.19	1.21	— ¹	2.43	1.48
2.39	1.53	1.81	2.47	1.18
1.95	.63	1.50	2.26	1.44
2.06	1.58	2.00	2.64	1.06
1.918	1.215	1.636	2.362	1.183

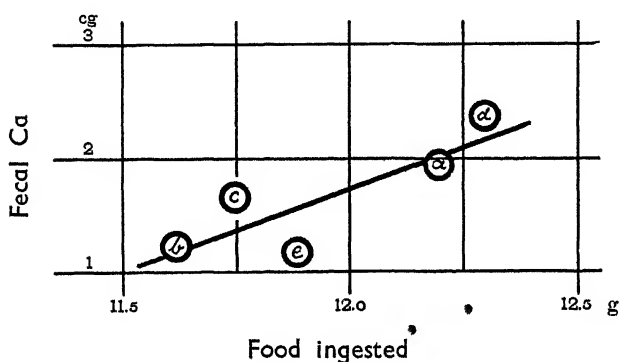


Fig. 5. The correspondence between the total ingestion of food and the fecal elimination of calcium. The regression coefficient is only 2.9 times its mean error.

viz. the total consumption of food. This tendency is illustrated in Fig. 5.

The experimental data of the independent variate in question are given in Tab. 11.

The analysis of variance shows that the variation between the animals is not significantly wider than within them. Furthermore, the variation between the animals is rather moderate. This may be one of the reasons why a significant covariation between the total food ingestion and the fecal calcium cannot be demonstrated. The direct calculation of

¹ Lost.

Tab. 11.

Total food consumed, dry substance in dekagram.

a	b	c	d	e
1.38	1.37	1.00	1.07	1.19
1.41	1.39	1.08	1.14	1.30
1.34	1.09	1.06	1.09	1.32
.91	.87	1.28	1.37	1.07
1.08	1.23	1.26	1.32	1.23
1.20	1.03	1.37	1.39	1.02
1.220	1.162	1.175	1.230	1.188

the regression coefficient, relating to the variation between the animals as well as the variation within them, comes out with a very poor significance.

A discussion founded on such a weak basis may be considered rather futile. Nevertheless, in this connection there are some points of interest which may have a certain bearing on the present problem. Previous investigations from this laboratory have shown a highly significant positive net covariation between the fecal elimination of calcium and the simultaneous ingestion of tri-stearine. It is very probable that there exists, in the present case, a close correlation between the total consumption of food and the consumption of this fat. It is true, a direct determination fails to confirm this assumption, if the fat values used have been calculated in the usual way, i. e. on the basis of dry weight of the ready-made food mixtures and their weighed out addition of tri-stearine. It is to be noticed, however, that the values of the fat consumption obtained with this method are not always suited to demonstrate the influence in question. They may suit the purpose only when the variation range of the fat consumption has a considerable width, as then the demands of accuracy can be put rather low. But if, as in the present case, the variation range of the total food consumptions, as well as that of the fat percentages, is very narrow, our calculated values of the fat consumption cannot be considered sufficiently exact to permit the demonstration of a covariation between

them and any other concomitant factor. The supposition of this demonstrability is, in fact, that no loss at all, or an exactly equal loss, of the fat quantity added has occurred during the preparation of the food mixtures. In order to find out the minimum size of these losses for the existence of a significant positive covariation between the stearine consumption and the fecal loss of calcium, we have adjusted by regression the fat percentages of the different food mixtures in the usual way, and have obtained the following values:

Food mixture	Fat percentages		Stearine lost
	calculated	adjusted	
A	9.29	8.65	2.2 g
B	9.38	8.79	1.9
C	8.85	8.78	.2
D	9.12	8.59	1.7 .

The losses of tri-stearine calculated in this way represent very reasonable values.

The conclusion to be drawn from these premises is that the poor significance of the regression coefficient for the covariation between the fat consumption and the fecal elimination of calcium may depend on the inexactitude of the values of fat consumption.

Once more the renal elimination of phosphorus. Returning to the renal elimination of phosphorus, we call attention to the existence of two different factors controlling this elimination, viz. the oral consumption of *phosphorus* and the intestinal elimination of *calcium*. We have already dealt with the difficulty of explaining the influence of the last-mentioned factor. The discussion of the covariation between the fat consumption and the fecal elimination of calcium may decrease this difficulty. What has been said about losses of fat during the preparation of the food mixtures may be equally true as to the sodium salt used. It signifies that there is a possibility of a covariation

between the sodium consumption and the fecal elimination of calcium. If such is the case, the covariation observed between the fecal elimination of calcium and the urinary elimination of phosphorus may indicate, that it is the varying consumption of *sodium* which shares the control of the phosphoric urinary output. It must be held in mind, however, that this explanation is only tentative and not supported by cleancut evidence.

Summary.

The present investigation is a continuation of a previous one dealing with ammonium phosphate, here replaced by sodium phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2 \text{ aq.}$). The experimental animals were 5 full-grown male albino rats. They were taken through experimental periods of 10 days, the last 6 of which formed the test period proper.

The result obtained are essentially the same as those arrived at in the previous investigation. The sole, more obvious difference is that in the present experiments the urinary elimination of phosphorus is controlled by two factors, one of which is the consumption of phosphorus, while the other probably is the varying consumption of sodium. This last-mentioned conclusion is drawn from a discussion and is not shown directly by the observations.

Sammanfattning.

Fosfor- och calcium-omsättningen hos fullväxta råttor med natriumfosfat som enda fosforkälla och på calcium-fattig näring.

Undersökningen utgör fortsättningen av den föregående med ammonium-fosfat, som här ersatts med natrium-fosfat. Resultaten äro i stort sett desamma som i den föregående undersökningen. Den mest framträdande olikheten är, att hos djur med natrium-fosfat som huvudsaklig fosforkälla urinens fosformängd regleras av två faktorer, nämligen dels av den för-

tärda fosformängden, dels av den förtärda natriummängden. Det är att märka, att till slutsatsen om denna sistnämnda faktors inverkan har förf. kommit genom en diskussion och icke genom direkta observationer.

Reference.

- WESTERLUND, A. 1939. The metabolic behaviour of phosphorus. Balance sheets of phosphorus in full-grown rats fed with tri-stearine and ammonium phosphate. — *Annals of the Agricult. College of Sweden*. Vol. 7.
-

Über die Aufnahme und Assimilation von Nitrat durch Weizenkeimlinge.

Von HANS BURSTRÖM.

Aus dem Institut für Pflanzenphysiologie.

Einleitung. Versuchsmaterial.

In einer früheren Arbeit (BURSTRÖM, 1937) wurde über den Ort der Nitratassimilation in 2 bis 3 Wochen alten Weizenpflanzen berichtet. Es zeigte sich, dass Nitrat im Dunkeln hauptsächlich in den Wurzeln und anscheinend gar nicht in den Blättern assimiliert wird, wenigstens soweit es sich um die benutzten Gewächshauspflanzen handelte. Bei Belichtung dagegen findet die Verarbeitung des Nitrats auch in den Blättern statt, und sie geht hier dabei auch schneller als in den Wurzeln vor sich. — Bekanntlich wechselt der Ort der Nitratassimilation in höheren Pflanzen; die Extreme vertreten einerseits solche Pflanzen (z. B. Asparagus, Narcissus, Bäume, NIGHTINGALE 1937), bei denen die Assimilation ausschliesslich in den feinsten Wurzelverzweigungen verläuft, andererseits z. B. Ananas und Mais bei denen (nach SIDERIS 1935, SIDERIS, KRAUSS & YOUNG 1938) sie ganz an die oberirdischen, grünen Teile geknüpft ist. Wie viele andere Kräuter (z. B. Tomate, Lathyrus NIGHTINGALE a. a. O.) nimmt Weizen eine Mittelstellung ein, insofern dass die Assimilation je nach den Umständen in Wurzeln oder Blättern stattfinden kann und unter natürlichen Verhältnissen wahrscheinlich mehr oder weniger in verschiedenen Teilen der Pflanze gleichzeitig erfolgt.

Unter den die Nitrataassimilation begrenzenden Bedingungen muss man in erster Linie die Kohlenhydratzufuhr berücksichtigen. Dabei verhalten sich aber die Wurzeln und Blätter des Weizens auffallend verschieden. In den Wurzeln kann durch andauernde Nitrataassimilation der Gehalt an löslichen KH (Glucose + Fructose) bis auf null sinken ehe die Assimilation aufhört, in den Blättern wird diese durch KH-Mangel gehemmt, auch wenn Analysen der ganzen Blätter einen ziemlich hohen durchschnittlichen KH-Gehalt anzeigen. In den Wurzeln können die zugänglichen KH besser als in den Blättern ausgenutzt werden. Um dies zu erklären wurde der Gedanke ausgesprochen, dass die Erschwerung der Nitrataassimilation in den Blättern ihren Grund einfach in einer örtlichen Trennung der reagierenden Stoffe — namentlich Nitrat und KH — hat. Es wäre deshalb von Interesse zu wissen, ob dieselbe Verteilung der Assimilation auch in solchen jungen Pflanzen vorkommt, deren Organ und Gewebedifferenzierung weniger weit vorgeschritten ist, d. h. in sehr jungen, nur einige Tage alten Keimlingen. Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war teils diese Frage zu beantworten und der Ort der Assimilation schärfer festzustellen, teils eine brauchbare Methode zum Studium der Einzelheiten der Nitrataassimilation auszuarbeiten.

Das Versuchsmaterial bestand aus 3—4 Tage alten Keimlingen von Sommerweizen Diamant. Die Untersuchung erfolgte so, dass zuerst die Aufnahme und Assimilation des Nitrats in intakten Keimlingen ermittelt wurden, alsdann wurden nacheinander verschiedene Teile der Keimlinge entfernt und der Einfluss der operativen Eingriffe auf die Verwertung des Nitrats wurde verfolgt. Selbstverständlich müssen die Ergebnisse einer solchen Arbeitsweise mit grösster Vorsicht gedeutet werden, weil durch Entfernung oder Isolierung von Organen die korrelativen Zusammenhänge der Pflanzenteile weitgehend gestört werden, was nicht ohne Bedeutung für den Ausfall der Nitratverwertung sein kann.

Die Versuche wurden ganz aseptisch ausgeführt, nach einer Methode die andernorts ausführlich beschrieben worden ist

(BURSTRÖM 1939). Die Zusammensetzung der Versuchslösungen wechselte; diese enthielten im allgemeinen NaNO_3 oder KNO_3 1/500-mol und Phosphatpuffer 1/200-mol mit einem pH von 5.5—7.0 (in einzelnen Fällen bis 7.5). Dazu kam in den meisten Versuchen Glucose 1/200—1/50 mol (vgl. die Tabellen). Die Nitrataassimilation verlangt ausserdem Anwesenheit von Mangan (BURSTRÖM 1939). Die früheren Versuche wurden mit nicht besonders gereinigten Merck oder Kahlbaum Präparaten ausgeführt, die als Verunreinigungen wirksame Mn-Spuren enthalten, spätere Versuche wurden auch mit gereinigten Lösungen und Mn-Zusätzen angestellt. Es wurden zwei Weizensorten verschiedener Herkunft (aus Ultuna und Svalöv) verwendet, die sich hinsichtlich ihrer Keimungsgeschwindigkeit und der erhaltenen Pflanzengrösse unterschieden. Jedes Versuchsgefäss wurde mit 15—25 ml Lösung beschickt, dazu kamen 12—30 Pflanzen oder Teile davon. Es wurde somit absichtlich auf strenges Konstanthalten der Versuchsbedingungen verzichtet; man gewinnt hierdurch den Vorteil, dass eindeutigen Versuchsausschlägen grössere Zuverlässigkeit beigemessen werden kann. Dagegen wurde immer im Dunkeln bei 25° gearbeitet mit einer Versuchsdauer von einem Tag und guter Durchlüftung der Versuchskolben.

Die Analysen wurden nach früher beschriebenen Methoden ausgeführt, sie werden unten in μmol Nitrat für die in jeder Tabelle angegebene Pflanzenzahl berechnet.

Bei den benutzten Keimpflanzen betrug die Länge des Koleoptils etwa 12 mm; obwohl es während der Versuchsdauer etwas zugewachsen war, wurde es von den Blättern nicht durchbrochen. In der folgenden Darstellung werden Blätter + Koleoptil mit Spross bezeichnet. Der Keimling kann ohne Beschädigung leicht von dem Korn entfernt werden, die Trennung erfolgt zwischen Scutellum und Endosperm. Der mittlere Teil des Keimlings, der also aus Hypokotyl + Scutellum + Wurzelbasis besteht, wird unten kurzwegs nur Hypokotyl genannt. Der sehr zerbrechliche Spross kann von dem Hypokotyl einfach abgebrochen werden. Die drei (bis fünf) wohl

entwickelten fadenförmigen Wurzeln wurden von dem Hypokotyl abgeschnitten; ihre Länge betrug 20—25 mm. Mit Ausnahme der apikalen 2 mm waren sie reichlich mit Wurzelhaaren besetzt, die jedoch in dem basalen Teil zu altern anfangen.

In Tabelle 1 werden einige Daten zur Charakterisierung der benutzten Keimlinge mitgeteilt.

Tabelle 1.

Durchschnittliche Grösse der Versuchspflanzen.

Teil	Länge mm	Gewicht g pro 30 Pflanzen
Korn	x	1,60
Spross	12	0,40
Hypokotyl	x	0,15
Wurzeln	20—25	0,40

Versuchsergebnisse.

Die Tabellen 2—10 geben über die Rolle des Korns bei der Nitrataassimilation und der Verteilung der Assimilation zwischen den Hauptteilen des Keimlings in grossen Zügen Auskunft. Sie sind demgemäss nur als orientierend zu betrachten.

Der Keimling erhält von dem Korn besonders KH und daneben einigermassen auch Mineralstoffe. Es ist deshalb zu erwarten, dass die Nitrataassimilation, die gegen die KH-Zufuhr immer empfindlich ist, schnell abnehmen muss, wenn das Korn von dem Keimling entfernt wird, wie es aus den Tabellen 2—4 auch hervorgeht.

Tabelle 2 zeigt zuerst den normalen Verlauf der Nitrataassimilation in intakten Keimlingen mit Körnern (2 A und B) nach ein- bzw. zweitägiger Versuchsdauer an. Während des zweiten Tages beträgt die Nitrataufnahme nur etwa 60 % der des ersten Tages, was auf den sinkenden Nitratgehalt der Versuchslösung zurückzuführen ist. 15 Pflanzen erhielten anfangs 50 μ mol Nitrat, davon wurde während des ersten Tages 20,7

Tabelle 2.

NaNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 7,5. $\mu\text{mol NO}_3$ pro 15 Pflanzen.

Teile	Versuchsdauer St.	NO ₃				
		Aufgenommen	Gespeichert			Assimiliert
			Spross	Wurzel	Summe	
A. Keimling mit Korn .	24	20,7	1,8	8,7	9,9	10,8
B. " " " .	48	32,7	2,0	13,7	15,7	17,0
C. Keimling ohne Korn .	48	13,3	2,9	7,3	10,2	3,1
D. Wurzel + Hypokotyl .	48	10,3	x	7,1	7,1	3,2
E. Spross	48	2,5	2,3	x	2,2	0,2

μmol oder 41 % aufgenommen (A). Nach einem Tag standen den Keimlingen somit nur 29,3 μmol zur Verfügung, davon verbrauchten sie während des zweiten Tages 12,0 μmol oder ebenfalls 41 %. Die Geschwindigkeit der Nitrataassimilation ist ebenso während der zwei ersten Versuchstage konstant; 52 % des aufgenommenen Nitrates wurde assimiliert. Wie früher gezeigt worden ist (BUNSTRÖM 1937) kann man auch für ältere Weizenpflanzen damit rechnen, dass etwa 50 % des aufgenommenen Nitrats sofort nach dem Eintritt in die Wurzeln verbraucht werden. Die jungen Keimlinge stimmen in dieser Hinsicht mit älteren Pflanzen sehr gut überein. Dass aber auch grosse Abweichungen hiervon auftreten können, zeigen die folgenden Tabellen. Aus Tabelle 2 A und B geht weiterhin hervor, dass das Nitrat vorwiegend in den Wurzeln gespeichert wird und dass besonders bei längerer Versuchsdauer die Steigerung der Speicherung fast nur den Wurzeln zu gute kommt.

Werden die Körner entfernt (2 C) so sinkt die Nitrataufnahme auf weniger als die Hälfte herab, die Speicherung wird jedoch weniger beeinflusst, in den Sprossen wird gelegentlich sogar ohne Körner mehr Nitrat gespeichert (vgl. Tabellen 3 und 4). Die Abnahme trifft besonders schwer die Assimilation, die bis auf null herabsinkt.

Tabelle 3.

NaNO_3 1/750-mol, Puffer 1/200-mol, pH 7,5. $\mu\text{mol NO}_3$ pro 15 Pflanzen.

Teile	NO_3		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
A. Keimling mit Korn	14,3	3,6	10,7
B. Keimling ohne Korn . . .	9,4	4,7	4,7
C. Keimling und Korn voneinander getrennt	10,7	2,9	7,8

Tabelle 4.

NaNO_3 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 7,0, Glucose 1/200-mol. $\mu\text{mol NO}_3$ pro 15 Pflanzen.

Teile	NO_3				
	Aufgenommen	Gespeichert			Assimiliert
		Spross	Wurzel	Summe	
A. Keimling mit Korn *	17,8	1,3	4,1	5,4	12,4
B. Keimling ohne Korn .	9,5	1,5	4,5	6,0	3,5
C. Spross	2,2	1,0	x	1,0	1,2
D. Wurzel	4,4	x	1,5	1,5	2,9
E. Korn, ungekeimt . .	1,5	x	x	0	1,5

Ausser dass die Körner die Keimlinge mit KH versorgen und dadurch die Assimilation begünstigen, muss man auch damit rechnen, dass die gequollenen Körner selbst Nitrat durch die Schale aufnehmen können. Dass diese Möglichkeit hier nicht zutrifft, zeigen Tabellen 4 und 9; der unbedeutende Nitratverbrauch, der durch die Körner erhalten wurde, liegt ganz innerhalb der Analysenfehlergrenze. Dagegen geht aus Tabelle 3 hervor, dass die Anwesenheit von isolierten Körnern neben Keimlingen genügt, um deren Assimilation merklich zu erhöhen. Es muss dabei KH aus Körnern durch die Wundfläche austreten und durch die Keimlinge aufgenommen werden.

Es ist offenbar, dass die Körner selbst nicht an der Assimilation teilnehmen, sondern nur als KH-Lieferanten dienen. Wie unten gezeigt wird, können sie auch durch eine Glucoselösung ersetzt werden.

Eine aktive Ionenaufnahme fehlt den isolierten Sprossen, ihre assimilatorische Leistung ist deshalb natürlich gering. Die Nitrataufnahme der Sprosse in den Tabellen 2 E und 4 D ist sehr unbedeutend und entspricht wahrscheinlich nur dem

Tabelle 5.

NaNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 6,0. μ mol NO₃ pro 15 Pflanzen.

Teile	NO ₃		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
A. Keimling mit Korn	15,8	4,6	11,2
B. Wurzel + Hypokotyl + Korn .	13,8	2,5	11,3
C. Wurzel + Hypokotyl	3,4	2,0	1,4

Betrag, der passiv mit dem Wasser durch die Schnittfläche aufgenommen wird. Es ist aber auffallend, dass auch diese winzigen Mengen nicht vollständig assimiliert werden können, ohne Glucosezusatz (Tab. 2) beträgt die Assimilation null und auch mit Glucose (Tabelle 4) wird das Nitrat zum Teil in den Blättern gespeichert. Daraus kann jedoch nicht geschlossen werden, dass *intakte* Sprossen nicht an der Assimilation teilnehmen. Aus Tabelle 5 kann aber geschlossen werden, dass Wegnahme des Sprosses die Assimilation des Keimlings nicht vermindert, gelegentlich tritt aber auch eine geringfügige Senkung auf. Jedenfalls steht immer die Leistung des Sprosses der der Wurzeln beträchtlich nach. Die Ursache hierfür könnte zum Teil einfach darin liegen, dass das Nitrat fast nicht aus den Wurzeln in die Blätter geleitet wird; wie schon oben betont wurde, wird das Nitrat auch sehr wenig in den Blättern gespeichert, sondern hauptsächlich in den Wurzeln festgelegt.

Tabelle 6.

NaNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 5,5, Keimlinge ohne Körner.
 µmol NO₃ pro 20 Pflanzen.

Glucose mol.	NO ₃		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
0	15,4	6,8	8,6
1/1000	18,6	6,7	11,9
3/1000	18,3	6,0	12,3
1/100	17,4	5,1	12,3
1/40	20,9	4,4	16,5

Ohne Glucosezusatz ist die Assimilation der sprosslosen Keimlinge (Wurzel + Hypokotyl) sehr gering und noch mehr gilt dies für isolierte Wurzeln (Tabellen 4, 7, 8). Die Aufnahme kann aber auch in diesem Fall zu recht hohen Werten ansteigen, das aufgenommene Nitrat wird aber fast quantitativ in den Wurzeln aufgespeichert wiedergefunden. Die fehlende Assimilation beruht hier ausschliesslich auf KH-Mangel, da durch Glucosezusatz die Assimilation auf normale Werte gebracht werden kann. Die Wurzeln wachsen sehr schnell

Tabelle 7.

NaNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 6,0, Wurzeln. µmol NO₃ pro 15 Pflanzen.

Glucose mol.	NO ₃		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
0	10,7	8,8	1,9
1/1000	12,5	9,2	3,3
1/300	8,1	5,8	2,3
1/100	9,4	5,1	4,3
1/30	16,0	4,6	11,4
1/10	27,1	3,8	23,3

Tabelle 8.

KNO₃ 1/500-mol, ohne Puffer (pH ± 6), Wurzeln. μmol NO₃ pro 30 Pflanzen.

Glucose mol.	NO ₃		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
0	10,8	8,8	2,0
1/1000	12,2	9,3	2,9
1/300	12,8	7,0	5,8
1/100	16,1	8,5	7,6
1/30	19,2	8,6	10,6

Tabelle 9.

NaNO₃ 1/250-mol, Puffer 1/200-mol, pH 6. μmol NO₃ pro 15 Pflanzen.

Teile	NO ₃		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
A. Wurzel + Hypokotyl + Korn .	10,8	0	10,8
B. Wurzel + Hypokotyl + Glucose 1/100-mol	17,3	4,7	12,6
C. Korn, ungekeimt	0,1	0	0,1

und enthalten demgemäss keine nennenswerten KH-Mengen vorrätig. Die Mengen, die sich im Hypokotyl vorfinden, können jedoch eine mässige Assimilation unterhalten.

Tabelle 7 zeigt, wie die Assimilation durch Glucosezufuhr langsam ansteigt, gleichzeitig nimmt die Menge gespeicherten Nitrats etwas ab. Bei niedrigen Glucosekonzentrationen wurden in diesem Versuch etwas unregelmässige Werte erhalten; eine Wiederholung desselben mit Mn-Zusatz (Tabelle 8) ergab dieselben Werte für die niedrigsten und höchsten Glucosegehalte wie in Tabelle 7, die Steigerung der Assimilation ist aber regelmässiger. Auch mit ganzen Keimlingen (ohne Körner)

wird durch Glucosezusatz eine kräftige Steigerung der Assimilation erhalten (Tabelle 6). Diese drei Versuche zeigen aber, dass erst bei hoher Glucosekonzentration der Nährlösung ($1/40$ — $1/30$ -mol) annähernd dieselbe Assimilation wie in Keimlingen mit Körnern hervorgebracht wird. Die reichliche KH-Zufuhr aus dem Korn lässt sich also in der Praxis nur mit Schwierigkeit durch Glucosezusatz völlig ersetzen. Die Geschwindigkeit der Glucoseaufnahme aus der Lösung stellt anscheinend ein Hindernis für eine ergiebigere Assimilation dar.

Aus den jetzt besprochenen, einführenden Versuchen können folgende Schlüsse gezogen werden. 1) Die assimilatorische Leistung des Sprosses ist verhältnismässig gering, die Verarbeitung und auch Speicherung des Nitrats findet hauptsächlich in den Wurzeln statt. 2) Die Assimilation in den fadenförmigen Wurzeln ist von der KH-Zufuhr abhängig. 3) Das Korn dient als KH-Lieferant an dem Keimling und kann als solcher durch eine $1/40$ — $1/30$ -mol Glucoselösung ersetzt werden.

Die folgenden Versuche behandeln in Einzelheiten die Verteilung der Nitrataufnahme und Assimilation in den Wurzeln; dabei konnten aber stärkere Glucoselösungen als $1/100$ -mol nicht benutzt werden wegen der Gefahr, dass höhere Konzentrationen den Wurzeln zu unnormale Bedingungen — namentlich osmotische — darbieten könnten.

Nachdem somit festgestellt worden war, dass der Beitrag der Sprossen zu der Assimilation in den meisten Fällen ziemlich unbedeutend ist und dass bei Zusatz von Glucose zu der Nährlösung auch die Körner entfernt werden konnten, ohne dass der Verlauf der Assimilation gestört wurde, erhob sich die Frage, wie die verschiedenen Teile des Wurzelsystems sich an der Assimilation beteiligen. Zunächst musste ermittelt werden wie eine Entfernung des Hypokotyls und der Wurzelbasis den Nitratverbrauch beeinflusst.

Tabelle 10 zeigt, dass durch Entfernung des Sprosses die Assimilation um etwa 25 % abnimmt während die Nitratspeicherung kaum beeinflusst wird. In den isolierten Hypokotylen kommt ferner, wie zu erwarten ist, keine aktive Ionen-

Tabelle 10.

NaNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol. pH 5,5. Ohne Glucose. μ mol
NO₃ pro 20 Pflanzen.

Teile	NO ₃		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
A. Keimling ohne Korn . . .	20,7	10,6	10,1
B. Wurzel + Hypokotyl . . .	17,5	9,9	7,6
C. Hypokotyl	2,6	1,0	1,6
D. Wurzel	12,8	8,8	4,5

aufnahme und folglich auch keine Assimilation vor. Isolierte Wurzeln leisten eine Nitrataufnahme, die derjenigen der gesamten Wurzelsysteme (Wurzeln + Hypokotyle) um weitere 25 % nachsteht, die Assimilation ist jedoch um 40 % gesunken. Daraus könnte also der Anteil des Hypokotyls an der Assimilation auf denselben Betrag berechnet werden. Isolierte Wurzeln und Hypokotyle verbrauchen jedoch zusammen nur 80 % der Leistung intakter Wurzelsysteme, es fehlen somit 20 % für welche auf diese Weise keine Rechenschaft abgelegt wird. Dieser Verlust ist dadurch entstanden, dass die Organe von einander getrennt worden sind, entweder so, dass die Assimilation in dem Hypokotyl vermindert wird, wenn kein Nitrat aus der Wurzel dorthin geleitet wird, oder sie hat in der Wurzel wegen der abgebrochenen KH-Zufuhr aus dem Hypokotyl abgenommen.

Dieses (+ Scutellum) enthält reichlich transitorisches KH, und ein Glucose-Zusatz zu den isolierten Wurzeln hat scheinbar denselben Effekt wie das Hypokotyl. So gibt in Tabelle 11 1/200-mol Glukose dieselbe Speicherung und Assimilation wie Wurzeln + Hypokotyl. Es ist trotzdem kaum wahrscheinlich, dass die Einwirkung des Hypokotyls auf die eines KH-Lieferanten beschränkt ist. Tabellen 12 und 13 zeigen, dass auch mit Glucosezusatz in dem Hypokotyl eine Assimilation von etwa 40 % derjenigen in Wurzel + Hypokotyl stattfindet.

Tabelle 11.

NaNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 5,5. μ mol NO₃ pro 20 Pflanzen.

Teile	Glucose mol.	NO ₃		
		Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
Wurzel + Hypokotyl .	0	17,4	7,9	9,5
Wurzel	1/1000	12,7	7,8	5,4
»	1/300	16,4	7,5	8,9
»	1/100	18,8	8,4	9,0

Tabelle 12.

NaNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 5,5, Glucose 1/100-mol. μ mol NO₃ pro 20 Pflanzen.

Teile	NO ₃					
	Aufge- nommen	Gespeichert				Assimi- liert
		Spross	Hypo- kotyl	Wurzel	Summe	
A. Keimling ohne Korn	21,8	2,2	1,8	11,8	14,8	6,5
B. Dasselbe mit dekapi- tiertem Spross . . .	21,0	1,1	0,7	10,6	12,4	8,6
C. Wurzel + Hypokotyl	17,9	x	0,5	10,8	10,8	7,1
D. Wurzel	13,8	x	x	8,1	8,1	5,7

Dies bedeutet also, dass in dem intakten Wurzelsystem trotz der KH-Zufuhr aus dem Hypokotyl die Assimilation durch Glucosezusatz fast im gleichen Grad wie in isolierten Wurzeln ansteigt. Zum Teil beruht diese Steigerung darauf, dass auch mit intakten Hypokotylen die Nitrataufnahme durch den Glucosezusatz gesteigert wird. Es scheint aber, als ob eine Assimilation wirklich auch in dem Hypokotyl oder der obersten Wurzelbasis vor sich geht. Die hierhin zu verlegende Assimilation kann auf 20—30 % von der des gesamten Wurzelsystems geschätzt werden.

Tabelle 13.

NaNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 5,5, Glucose 1/100-mol. μ mol
NO₃ pro 20 Pflanzen.

Teile	NO ₃		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
A. Wurzel + Hypokotyl	14,8	7,9	6,4
B. Wurzel	11,1	7,1	4,0
C. Wurzel dekapitiert + Hypo- kotyl	13,8	7,8	6,0
D. Wurzel dekapitiert	8,6	6,9	2,7

Tabelle 14.

Aus Tabelle 13 berechnete Leistung der verschiedenen Teile der
Wurzel. Mittelwerte in Schrägschrift.

Teile	NO ₃		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
Hypokotyl {	A-B	3,2	0,8
	C-D	4,2	0,9
Dekapitierte Wurzel {	B+C-A	10,6	7,0
	D	9,6	6,9
Wurzelspitze {	A-C	0,5	0,1
	B-D	1,5	0,2

Die Speicherung des Nitrats ist aber im Hypokotyl sehr unbedeutend. Das geht direkt aus den Analysen in Tabelle 12 hervor. Die Nitratmenge beträgt hier nur etwa 1/20 der insgesamt gespeicherten, das Gewicht macht aber fast ein viertel aus. Dasgleiche Ergebnis kann auch aus Tabelle 13 berechnet werden. Für jeden Teil des Wurzelsystems kann sein Anteil an der Assimilation auf zwei unabhängigen Wegen berechnet werden, diese Werte sind in Tabelle 14 zusammen-

gestellt worden. Die gute Übereinstimmung der Parallelberechnungen zeigt, dass diese Zerteilung die Leistung der einzelnen Teile nicht merklich beeinflusst hat. Die Berechnungen zeigen, wie sich die Assimilation auf die Wurzeln verteilt. Die Leistung des Hypokotyls ist dieselbe wie früher, die Nitrataufnahme und Speicherung findet aber hauptsächlich in dem mit Wurzelhaaren versehenen Hauptteil der Wurzel statt. Die Wurzelspitzen, die in den Versuchsgliedern C + D entfernt wurden (vgl. Tabelle 13) hatten eine Länge von etwa 2 mm und machten nur die Teilungs- und Streckungszonen aus. Die Absicht mit ihrer Entfernung war, zu entscheiden, ob die Assimilation in den plasmareichen Meristemzellen vor sich geht oder einfach durch den Zuwachs bedingt wird. Der Versuch zeigt, dass keine der beiden Möglichkeiten zutrifft (vgl. auch unten).

Auf andere Weise wurden die Wurzeln in Tabelle 15 geteilt. Aus den fünf Versuchsgliedern kann wie in vorigem Versuch die Leistung folgender Teile der Keimlinge: Spross, Hypokotyl + basale Hälfte der Wurzel und apikale Wurzelhälfte berechnet werden (Tabelle 16). Die Übereinstimmung der in jedem Falle möglichen drei Berechnungen ist gut. Die Wurzeln wurden so genau wie möglich auf der halben Länge abge-

Tabelle 15.

NaNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 5,5, Glucose 1/100-mol. μ mol NO₃ pro 15 Pflanzen.

Teile	NO ₃		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
A. Keimling ohne Korn . . .	18,1	8,6	9,5
B. Dasselbe ohne apikale Wurzelhälfte	10,6	4,0	6,6
C. Wurzel + Hypokotyl	11,4	4,0	7,4
D. Basale Wurzelhälfte + Hypokotyl	4,7	1,0	3,7
E. Apikale Wurzelhälfte . . .	7,1	3,7	3,4

Tabelle 16.

Aus Tabelle 15 berechnete Leistung der verschiedenen Teile der Keimlinge. Mittelwerte in Schrägschrift.

Teile	NO ₃					
	Aufgenommen		Gespeichert		Assimiliert	
Spross	A—C	6,7	6,3	4,6	3,8	2,1
	B—D	5,9		3,0		2,9
Basale Wurzelhälfte + Hypokotyl	D	4,7		1,0		3,7
	B+C—A	3,9	4,3	—0,6	0,2	4,5
	C—E	4,3		0,3		4,0
Apikale Wurzelhälfte	A—B	7,5		4,6		2,9
	C—D	6,7	7,1	3,0	3,8	3,7
	E	7,1		3,7		3,4

schnitten. Die Assimilation verteilt sich recht gleichmässig auf die beiden Wurzelhälften, wird aber von der basalen Hälfte die wahrscheinliche Leistung des Hypokotyls abgezogen, so bleibt für den Basalteil der eigentlichen Wurzel nur etwa 10 % übrig. — Die Leistung des Sprosses ist in diesem Falle ungewöhnlich hoch. — Die Nitrataufnahme geht bedeutend schneller in dem apikalen Teil vor sich, und hier finden wir auch so gut wie die gesamte Nitratspeicherung. Dieser Teil, mit einer Länge von etwa 10 mm, umfasst den Vegetationspunkt, die Streckungszone sowie den jüngsten Teil der Wurzelhaarzone. Da oben gezeigt worden ist, dass die meristematischen Teile der Fähigkeit zur Aufnahme und auch Assimilation fast ermangeln, müssen sich folglich diese Vorgänge ausschliesslich im apikalen Teil der Wurzelhaarzone abspielen.

Die in den Tabellen 10—16 wiedergegebenen Versuche wurden alle mit Weizen aus Ultuna ausgeführt. Die Lokalisierung der Aufnahme und Assimilation dieser Keimlinge kann folgendermassen in Kürze zusammengefasst werden. Die Aufnahme findet in der Wurzelhaarzone, besonders in dem jünger-

sten Teil derselben statt. *Speicherung* kommt in erster Linie auch hier vor, fast nicht in dem älteren Teil der Wurzel oder dem Hypokotyl. Etwas mehr wird in dem Spross gespeichert. Die *Assimilation* geht in allen Teilen des Keimlings vor sich. Zwei Zentren für die Assimilation können aber unschwer unterschieden werden, erstens eines in dem jüngsten Teil der Wurzelhaarenzone, zweitens eines im Hypokotyl. Viel langsamer verläuft sie in dem basalen Teil der Wurzel und in dem Spross. Die zwei Zentren entsprechen den Orten der reichlichsten Nitratzufuhr — in Verbindung mit der Aufnahme — bzw. der reichlichsten KH-Zufuhr — in dem Hypokotyl. — Schematisch kann folgendes Bild der Nitratverarbeitung der Keimlinge entworfen werden. Das Nitrat wird in dem apikalen Teil der Wurzel hinter dem Vegetationspunkt aufgenommen und auch hier sofort nach dem Eintritt teilweise assimiliert. Das übrige Nitrat wird aufwärts geleitet zunächst durch den basalen Teil der Wurzel, wo die Assimilation langsam verläuft und passiert alsdann das Hypokotyl. Hier begegnet es dem KH-Strom aus den Speichergeweben und die Assimilationsgeschwindigkeit steigt demzufolge wieder an. Der allerdings geringe Rückstand gelingt zuletzt in die Blätter, wo wiederum nur wenig assimiliert wird.

Zum Vergleich mit diesen Versuchen wurde eine Reihe auch mit Weizen von derselben Sorte aus Svalöv ausgeführt; die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 18—27 zusammengestellt worden. In der folgenden Darstellung werden der Kürze halber die Abkürzungen S für Svalöv und U für Ultuna Weizen benutzt. — Der S-Weizen war durch etwas langsamere Keimung und besonders Wurzelentwicklung während der ersten Stadien gekennzeichnet wahrscheinlich nur wegen grösserer Empfindlichkeit gegen die Sterilisierungsmittel. Deswegen fiel aber die relative Spross- und Wurzelentwicklung anders als für den U-Weizen aus; selbstverständlich handelte es sich nur um eine Keimungsverzögerung und nicht um Beschädigungen der Keimlinge. Um den Vergleich der Weizensorten zu erleichtern wurden einige Versuche mit S-Weizen

Tabelle 17.

Vergleich zwischen der NO_3 -Assimilation in Weizen aus Ultuna und Svalöv. NO_3 μmol und Gewicht g.

Sorte	NO ₃ pro 100 Pflanzen		Gewicht pro 100 Pflanzen		NO ₃ pro g Wurzelgewicht	
	Aufge- nommen	Assimi- liert	Spross	Wurzel	Aufge- nommen	Assimi- liert
<i>Ultuna.</i>						
Keimling ohne Korn .	106,5	32,5	2,05	1,52	70,1	21,5
Isolierte Wurzel . . .	69,0	28,5			45,5	18,8
<i>Svalöv.</i>						
Keimling ohne Korn .	49,4	20,3	2,09	0,84	58,8	24,1
Isolierte Wurzel . . .	29,9	10,4			35,6	12,4

als genaue Wiederholung von gewissen der Versuche mit U-Weizen ausgeführt. In Tabelle 17 sind einige Daten aus zwei Versuchen zusammengestellt worden, um die wichtigsten Unterschiede zwischen den Weizensorten darzutun. Die beiden Versuche wurden zwar nicht gleichzeitig ausgeführt und können folglich nicht in Einzelheiten verglichen werden, sie sind aber für die Reaktionsweise der beiden Sorten bezeichnend.

Es ist deutlich, dass die NO_3 -Aufnahme des S-Weizens durchwegs niedriger ist, gleichgültig ob man pro Pflanze oder pro Gewichtseinheit rechnet. Die Assimilation durch intakte Keimlinge ist annähernd dieselbe — auf Wurzelgewicht berechnet — durch isolierte Wurzeln ist sie aber beträchtlich niedriger im S-Weizen. Es wurde oben darauf aufmerksam gemacht, dass in U-Weizen die Assimilation durch Entfernung des Sprosses kaum beeinflusst wird, in S-Weizen dagegen wird sie aber durch diesen Eingriff auf die Hälfte vermindert. Der Spross (oder das Hypokotyl) übt hier eine viel grössere Wirkung aus.

Die Unterschiede in der Zuwachsgeschwindigkeit gehen aus den Gewichtszahlen hervor; das Verhältnis Spross : Wurzel-

Tabelle 18.

KNO₃ 1/500-mol, Glucose 1/200-mol, Mn 3,6 mg/l. $\mu\text{mol NO}_3$ pro 100 Pflanzen.

Teile	NO ₃						Aufge- nommen	
	Auf- ge- nom- men	Gespeichert				Assimi- liert	Mn	K
		Spross	Wurzel		Summe			
			Basal- teil	Apikal- teil				
A. Keimling ohne Korn	61,1	3,2	5,3	10,9	19,8	41,7	2,75	66,8
B. Wurzel	27,5	x	4,9	6,6	11,5	16,0	1,36	12,5
C. Basale Wurzelhälfte	6,1	x	6,2	x	6,2	0	0,42	6,4
D. Apikale »	19,9	x	x	9,9	9,9	10,0	0,42	6,7
Summe C+D	26,0	x	6,2	9,9	16,1	10,0	0,84	13,1

Tabelle 19.

KNO₃ 1/500-mol, Glucose 1/200-mol, Mn 3,6 mg/l. $\mu\text{mol NO}_3$ pro 60 Pflanzen.

Teile	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert	Gewicht g
A. Wurzel	25,6	17,8	7,8	0,58
B. Basalteil der Wurzel	7,1	7,1	0	0,33
C. Apikalteil "	11,9	6,2	5,7	0,22
Summe B+C	19,0	13,8	5,7	0,55
D. Wurzel ohne Spitze	13,9	6,8	7,1	0,48

gewicht beträgt in dem angeführten Beispiel für U-Weizen 1,35 und für S-Weizen 2,50.

Hinsichtlich der Assimilation in den Wurzeln geht aus Tabellen 18 und 19 hervor, dass sie in isolierten Basalteilen null beträgt, auch wenn diese wie in Tabelle 19 3/5 der Wurzellänge ausmachen und der Apikalteil eine Länge von nur 10 mm hat. Die summierte Leistung von isolierten Basal- und Apikalteilen beträgt kaum mehr als 60 % der Assimilation

in ganzen Wurzeln (Tabelle 18). Wird dagegen der Basalteil vom Hypokotyl nicht getrennt, so erhalten wir in diesem Abschnitt der Wurzel dieselbe Assimilation wie in der apikalen Hälfte (Tabelle 20), genau wie mit U-Weizen. Der Unterschied liegt nur darin, dass man für S-Weizen annehmen muss, dass

Tabelle 20.

KNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 5,5, Glucose 1/100-mol. μ mol NO₃ pro 60 Pflanzen.

Teile	NO ₃						Mn auf- ge- nom- men
	Auf- ge- nom- men	Gespeichert				Assimi- liert	
		Spross	Wurzel		Summe		
			Basal- teil	Apikal- teil			
A. Keimling ohne Korn .	47,9	6,6	6,4	9,6	22,6	25,3	1,39
B. Keimling ohne apikale Wurzelhälfte	12,9	4,8	0	x	4,8	8,1	0,31
C. Hypokotyl + Wurzel .	29,5	x	5,9	7,7	13,6	15,9	0,53
D. Hypokotyl + basale Wurzelhälfte	11,9	x	5,3	x	5,3	6,6	0,23
E. Apikale Wurzelhälfte .	16,0	x	x	9,6	9,6	6,4	0,39

Tabelle 21.

Aus Tabelle 20 berechnete Leistung der verschiedenen Teile der Keimlinge. Mittelwerte in Schrägschrift.

Teile		NO ₃			
		Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert	
Spross	{ A-C . .	18,4	9,0	9,4	
	{ B-D . .	1,0	-0,5	1,5	
Basale Wurzelhälfte + Hypokotyl	{ C-E . .	13,5	4,0	9,5	8,0
	{ D	11,9	5,3	6,6	
Apikale Wurzelhälfte	{ C-D . .	17,3	8,3	9,3	7,3
	{ E	16,0	9,6	6,4	

die Assimilation noch stärker als in den U-Keimlingen auf den apikalen Teil und das Hypokotyl konzentriert ist; in diesem Material war sie etwas mehr entlang der ganzen Wurzel verteilt.

Entfernung des Wurzelvegetationspunktes (1—2 mm) hat auch hier keinen Einfluss auf die Assimilation (Tabellen 19 und 22) sondern nur auf die NO_3 -Speicherung, worauf unten zurückzukommen ist.

Der grösste Unterschied zwischen den Weizensorten besteht wie erwähnt in der Wirkung des Sprosses (Tabellen 18, 20, 22, 24). In Tabelle 18 z. B. beträgt die Assimilation durch isolierte Wurzeln kaum 40 % von der durch ganze Keimlinge, während sie in U-Weizen das doppelte oder mehr betragen konnte. Diesem Versuch gestattet aber nicht, zu entschieden werden, ob dieser Effekt dem Hypokotyl oder den Blättern zugeschrieben werden soll. Dies geht aber aus Tabellen 20—21 klar hervor.

Der Versuch in Tabelle 20 wurde nach genau demselben Plan wie in Tabelle 15 ausgeführt. Die Berechnungen in Tabelle 21 entsprechen auch denen in Tabelle 16. Es wurde oben hervorgehoben, dass die Übereinstimmung der auf ver-

Tabelle 22.

KNO_3 1/500-mol, Mn 3,6 mg/l, Glucose 1/100-mol. NO_3 μmol pro 80 Pflanzen.

Teile	NO ₃						K auf- ge- nom- men
	Auf- ge- nom- men	Gespeichert				Assimi- liert	
		Spross	Wurzel		Summe		
			Basal- teil	Apikal- teil			
A. Wurzel	45,9	x	12,0	17,1	29,1	16,8	32,0
B. Wurzel ohne Spitze .	27,1	x	14,0		14,0	13,1	14,8
C. Basale Wurzelhälfte	8,4	x	7,2	x	7,2	1,2	7,5
D. Apikale »	42,9	x	x	27,5	27,5	15,4	35,9
E. Keimling ohne Korn	83,9	9,5	16,2	23,2	48,9	35,0	87,0

schiedene Weise berechneten Werte für die Leistung der einzelnen Teile des Keimlings zeigt, dass die Organe ohne Störungen der Assimilation voneinander getrennt werden können. Solch gute Übereinstimmung wie in Tabelle 16 wird aber in Tabelle 21 bei weitem nicht erhalten. Dies hat seinen Grund in dem sehr starken Nitratverbrauch in ganzen Keimlingen (Tabelle 20 A) im Vergleich mit den anderen Versuchsgliedern. Die ober- und unterirdischen Teile arbeiten also hier nicht voneinander unabhängig. Alle Berechnungen, in die A eingeht, werden deshalb in Tabelle 21 fortgelassen, mit einziger Ausnahme der für den Spross.

Der Versuch zeigt zunächst, dass die Wurzel halbiert werden kann ohne dass die Assimilation vermindert wird. Der Spross kann dagegen nicht entfernt werden. Dass die Assimilationssteigerung der ganzen Keimlinge auf einer Wirkung des Sprosses und nicht des Hypokotyls beruht, ist offenbar. Es zeigt sich auch, dass dieser Effekt nur bei intaktem Wurzelsystem zutage tritt. Wird die apikale Wurzelhälfte entfernt, so übt der Spross keine Einwirkung auf die Assimilation (B—D in Tabelle 21) aus. Der Effekt wird somit durch eine Zusammenwirkung von Spross und Wurzelspitze hervorgerufen und besteht in einer von dem Spross verursachten Steigerung der Nitrataufnahme.

Tabelle 23.

KNO₃ variiert, Mn 3,6 mg/l, Glucose 1/100-mol. Wurzeln. NO₃ und Kationen μ mol pro 80 Pflanzen.

KNO ₃ mol.	NO ₃			Aufgenommen	
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert	K	Mn
1/2000	17,2	11,7	5,5	13,0	0,75
1/1000	29,4	18,4	11,0	22,8	0,91
1/500	50,6	33,4	17,2	50,4	0,88
1/250	51,0	25,6	25,4	35,7	0,50
1/125	68,0	48,8	19,7	67,9	0,28

Dass die gesteigerte Aufnahme nur in dem apikalen Wurzelteil stattfindet, beruht einfach darauf, dass der Basalteil überhaupt nur zu einer sehr beschränkten Nitrataufnahme befähigt ist. Dies ist z. B. aus Tabelle 20 ersichtlich, welche zeigt (20 B), dass durch den Nitratverbrauch in Hypokotyl + Spross die Nitratkonzentration in der Wurzelbasis auf null herabsinken kann; die Aufnahme aus dem Aussenlösung muss dabei sehr erschwert sein. Dieser Umstand ist umso auffallender, als der Nitratgehalt der Wurzel — auch des Basalteils — sonst recht konstant und von der Assimilationsgeschwindigkeit unbeeinflusst ist. Nach Tabelle 22 ist auch die Aufnahme durch die isolierte Basalhälfte unbedeutend und der Unterschied zwischen ganzen Wurzeln und isolierten Apikalhälften ist gering.

Die Beteiligung des Sprosses an der Assimilation wird durch die Versuche in Tabellen 24—27 beleuchtet, in denen verschiedene Teile der Blätter und des Koleoptils entfernt wurden.

Die Sprosse der intakten Keimlinge wachsen bedeutend während der Versuchsdauer — viel schneller als die Wurzeln — das Frischgewicht steigt auf etwa das doppelte an. Weil die Koleoptile geotropisch reizbar sind stellen sich die Sprosse schnell in die Vertikallage ein, so dass der grösste Teil über

Tabelle 24.

KNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol, pH 5,5, Glucose 1/200-mol. NO₃
 μ mol pro 80 Pflanzen.

Teile	NO ₃					Mn aufge- nommen
	Aufge- nommen	Gespeichert			Assimi- liert	
		Spross	Wurzel	Summe		
A. Keimling ohne Korn .	39,5	7,7	15,5	23,2	16,8	2,40
B. =A ohne Sprossspitze	49,7	6,8	18,1	24,9	24,8	2,00
C. =A ohne Wurzelspitze	32,7	7,8	9,0	16,8	15,9	1,69
D. Wurzel	23,9	x	15,6	15,6	8,8	1,10
E. Wurzel ohne Spitze .	14,4	x	7,8	7,8	7,1	0,77

Tabelle 25.

KNO₃ 1/500-mol, Mn 3,6 mg/l. NO₃ µmol pro 60 Pflanzen.

Teile	NO ₃					Gewicht g	
	Aufge- nommen	Gespeichert			Assimi- liert	Spross	Wurzel
		Spross	Wurzel	Summe			
Keimling							
A ohne Spross	20,9	x	15,4	15,4	5,5	x	1,02
B " apikale Spross- hälfte	27,5	2,8	13,3	16,1	11,4	0,40	0,90
C ohne Sprossspitze . .	38,3	0	20,8	20,8	17,5	0,71	0,99
D intakt	28,1	3,8	15,0	18,8	9,8	0,78	1,02
E ohne Koleoptil . . .	25,4	2,5	13,1	15,6	9,8	0,45	0,93

die Nährlösung hinausragt. Werden Teile des Sprosses entfernt, so entsteht ein eigentümlicher doppelter Effekt. Werden die Sprosse nur dekapitiert (d. h. höchstens 2 mm der Koleoptil + Blattspitzen entfernt), so steigt immer die Assimilation mehr oder weniger an, gelegentlich mit 100 % (Tabellen 24, 25, 27). Derselbe Effekt konnte übrigens auch mit U-Weizen erhalten werden (Tabelle 12). Werden aber grössere Teile des

Tabelle 26.

Derselbe Versuch wie in Tabelle 25. Kationen µmol pro 60 Pflanzen.

Versuchs- glied	K				Mn				Ca				
	Aufge- nommen	Gespeichert			Aufge- nommen	Gespeichert			Gespeichert			Abgegeben	Summe
		Spross	Wurzel	Summe		Spross	Wurzel	Summe	Spross	Wurzel	Summe		
A	25,7	x	55,5	55,5	0,78	x	0,72	0,72	x	1,80	1,80	2,04	3,84
B	28,3	21,3	56,5	77,8	0,72	0,17	0,50	0,67	1,36	1,70	3,06	2,68	5,69
C	44,5	28,3	66,8	95,1	0,88	0,29	0,65	0,94	2,17	2,66	4,83	2,61	7,44
D	40,0	32,6	55,7	88,3	0,90	0,82	0,61	0,98	2,35	2,28	4,63	3,38	8,01
E	28,9	19,3	55,3	74,6	0,77	0,20	0,54	0,74	1,48	1,69	3,17	2,95	6,12

Sprosses abgeschnitten, so nimmt die Assimilation wieder ab (Tabelle 25) und bei vollständig entfernten Sprossen erhalten wir, wie früher, beträchtlich geringere Assimilation als in intakten Keimlingen.

Wir finden somit eine positive Einwirkung des Sprosses, die sich darin äussert, dass die Assimilation abnimmt, wenn ein grösserer Teil entfernt wird und eine negative, die durch Abschneiden nur der äussersten Sprossspitze dargetan werden kann.

Die positive Wirkung tritt nur dann auf, wenn die Sprosse sich in Luft entwickeln. Werden sie auf der halben Länge abgeschnitten oder wird nur das Koleoptil weggenommen (Tabellen 25, 28) so nimmt die geotropische Reizbarkeit ab, die Sprosse können sich nicht aufrichten, sondern wachsen in der Lösung untergetaucht fort. In beiden Fällen sinkt die Assimilation, ebenso wenn bei grösserem Volumen an Nährlösung die Sprosse, trotz normaler Wuchsrichtung, nicht über die Lösungsoberfläche hinausragen. Der Effekt kann jedoch nicht lediglich mit dem Zuwachs in Verbindung gebracht werden — dieser kann derselbe sein, gleichgültig ob die Sprosse

Tabelle 27.

KNO₃ 1/500-mol, Mn 3,6 mg/l. NO₃ μ mol pro 60 Pflanzen.

Teile	NO ₃				
	Aufge- nommen	Gespeichert			Assimi- liert
		Spross	Wurzel	Summe	
Keimling					
A. intakt	41,2	8,5	16,7	25,2	16,0
B. ohne Koleoptilspitze . .	47,5	9,6	20,8	30,4	17,1
C. " " und Blattspitze	43,6	6,0	18,4	24,4	19,2
D. ohne Koleoptil	40,0	6,1	23,2	29,3	10,7
E. " " und Blatt- spitze	44,1	6,1	23,2	29,3	14,8
F. Wurzel	25,1	x	20,1	20,1	5,0

in Luft oder untergetaucht wachsen — und auch nicht mit der Transpiration. Diese konnte in den Versuchen zwar nicht ermittelt werden, sie muss aber, von der geringen Oberfläche des Koleoptils an die dampfgesättigte Atmosphäre des Versuchskolbens sehr unbedeutend sein. Die fördernde Wirkung des Sprosses dürfte statt dessen mit der Sauerstoffversorgung des Keimlings zusammenhängen, was um so wahrscheinlicher ist, als laut noch unveröffentlichten Versuchen die Assimilation auch in Pflanzenbrei durch Sauerstoff beschleunigt wird.

Es ist trotzdem kaum wahrscheinlich, dass die durch die Tätigkeit des Sprosses hervorgebrachte Assimilation wirklich auch in dem Spross vor sich geht. Für die Annahme, dass sie auch bei intakten Keimlingen in die Wurzel verlegt werden muss, sprechen die folgenden drei Umstände.

Erstens die oben erwähnte Zunahme der Assimilation, die ein Abschneiden der Sprossspitzen hervorruft. Tabelle 27 zeigt, dass sie eher auf den Eingriff in die Blattspitzen als in das Koleoptil zurückzuführen ist. Es ist auch deutlich, dass sie mit einer gesteigerten Nitratspeicherung in den Wurzeln und — in den meisten Fällen — auch geringerer Speicherung in den Blättern verbunden ist. (Tabellen 24, 25, 27). Dieselbe Verschiebung kommt auch für die Speicherung der Kationen zum Vorschein (Tabelle 26). Es wurden dabei drei Ionen analysiert: K, das anfangs in der Pflanze reichlich vorhanden war und auch während des Versuches zugeführt wurde, Mn, mit dem die Keimlinge zwar auch gespeist wurden, das aber, wie die Analysen zeigen, anfangs nicht in den Keimlingen nachweisbar war, und schliesslich Ca, das nur aus den Körnern herrührte, und von den Wurzeln an die Ca-freie Lösung abgegeben wurde. Die Unterschiede in den gespeicherten Mengen in den Versuchsgliedern C und D sind zwar zum Teil klein, die Ausschläge sind aber eindeutig und zeigen, dass durch Beschädigung der Blattspitzen eine Anreicherung aller Nährstoffe in der Wurzel hervorgerufen wird. Auf die Ursache hierfür kann nicht eingegangen werden; es handelt sich wahrscheinlich hier um Störungen der Stoffdynamik der Pflanze,

worüber wir gegenwärtig zu wenig wissen; besonders die quantitative Seite dieses Problems ist noch zu undurchsichtig, um hypothetische Erwägungen zu rechtfertigen. Es liegt aber die Annahme nahe, dass die beschleunigte Nitrataassimilation auf dieser Stoffanreicherung beruht; man muss dann allerdings annehmen, dass die Assimilation in der Wurzel und nicht in den Blättern verläuft.

Zweitens ist aus Tabelle 23 ersichtlich, dass die Leistungsfähigkeit der isolierten Wurzel bei weitem nicht ausgenützt

Tabelle 28.

KNO₃ 1/500-mol, Puffer 1/200-mol. pH 7,5, Mn 10 mg/l, Glucose 1/100-mol. Pflanzenbrei. NO₃ μ mol pro 120 Pflanzen.

Teile	NO ₃ assimiliert
Spross	0
Wurzel	6,2
Spross + Wurzel	13,2
Apikale Wurzelhälfte	3,2
» » + Spross	13,9

wird, wenn diese mit 1/500-mol KNO₃ gespeist werden; auf grössere Zusätze reagieren sie mit bis 50 % grösserer Assimilation. Wird deshalb durch die Tätigkeit des Sprosses die Aufnahme durch die Wurzeln gesteigert — was auch tatsächlich geschieht — so muss dabei ohne Zweifel auch die Assimilationsfähigkeit der Wurzel stärker in Anspruch genommen werden.

Drittens zeigen auch mehrere Versuche über die Assimilation in Pflanzenbrei, dass die Reaktion in die Wurzel und kaum in die Blätter verlegt werden muss. Die dabei benutzte Methode ist früher beschrieben worden (BURSTRÖM 1939), die Ergebnisse werden auch anderorts ausführlich besprochen werden; hier wird nur ein typischer Versuch wiedergegeben (Tabelle 28). In Brei aus Blättern kommt so gut wie keine

Assimilation vor, wohl aber in Wurzelbrei. In Brei aus S-Wurzeln ist sie allerdings schwach, ebenso wie auch die Leistung intakter S-Wurzeln geringer war als die der U-Wurzeln. Dagegen erhalten wir eine kräftige Steigerung in einem aus Spross + Wurzel hergestellten Substrat, die die summierte Wirkung von Spross und Wurzel für sich weit übertrifft. Aus Versuchen dieser Art konnte geschlossen werden, dass ein in den Blättern vorhandenes Prinzip die Assimilation in den Wurzeln beschleunigt, eine Annahme, die mit den tatsächlichen Verhältnissen in intakten Keimlingen gut vereinbar zu sein scheint. Was dies bedeutet und wie es mit der oben angedeuteten Rolle des Sprosses als Sauerstoffvermittler zusammenhängt, fällt ausserhalb des Rahmens dieses Berichts. Von Bedeutung in diesem Zusammenhang ist nur, dass wir mit gutem Grund annehmen können, dass die Mitwirkung des Sprosses an der Assimilation hauptsächlich indirekter Art ist.

Besprechung der Ergebnisse.

Der Ort der Nitrataufnahme.

Von den neueren Arbeiten über den Ort der Stoffaufnahme der Wurzel beschäftigen sich nur wenige mit der Ionenaufnahme, viel mehr sind der Wasseraufnahme gewidmet. Die gegenwärtigen Angaben stimmen jedoch im grossen ganzen ziemlich gut überein. PORCESCO (1926) schliesst aus kolorimetrischen Prüfungen, dass die NO_3 und Fe-Aufnahme in dem Teil basalwärts von der Streckungszone vor sich gehen, gleichzeitig mit der endgültigen Differenzierung der Endodermis hört die Aufnahme auf. PREVOT & STEWART (1936) haben die Br-Aufnahme und Speicherung mittels ähnlicher Methoden wie der unsrigen verfolgt — sie arbeiteten mit intakten Wurzeln oder isolierten Segmenten davon — und gleichfalls eine Abnahme der Speicherung in der Richtung von der Spitze nach der Basis der Wurzel zu gefunden. Wie sich der wurzelhaarfreie Meristemteil verhält, können sie aber nicht entscheiden. Zu demselben Schluss kommen GREGORY & WOODFORD (1939)

auf Grund verfeinerter mikropotometrischer Bestimmungen des Orts der Nitrataufnahme durch intakte Wurzeln.

In bester Übereinstimmung hiermit zeigen auch die hier mitgeteilten Versuche, dass die Nitrataufnahme von der Spitze aus basalwärts abnimmt. Für den Ultuna-Weizen ist auch deutlich, dass die meristematische Spitze (Teilungs- + Streckungszonen) an der Resorption nicht teilnimmt. Bei dem Svalöv-Weizen liegen die Verhältnisse nicht so übersichtlich, ich werde darauf weiter unten zurückkommen (S. 283 ff.) Auch hier dürfte aber die Aufnahme durch die Wurzelspitze unbeträchtlich sein, sie ist auf den mit Wurzelhaaren versehenen Teil begrenzt, der sich 2 mm von der Spitze aus basalwärts erstreckt. In Svalöv-Weizen verläuft auch die Aufnahme fast nur in den apikalen 10 mm (siehe besonders Tabelle 19), wird aber der meristematische Teil abgezogen, so beträgt die Zone der stärksten Nitrataufnahme etwa 8 mm, während der Hauptteil der Wurzel mit einer Länge von etwa 15 mm an der Aufnahme nur wenig teilnimmt. In dem Ultuna-Weizen verteilte sich dagegen diese gleichmässiger der Wurzel entlang, allerdings mit einem deutlichen Übergewicht für den apikalen Teil. Dieser Unterschied zwischen zwei Parteien derselben Weizenrasse, obwohl verschiedener Herkunft ist jedoch kaum überraschend. Für die besser erforschte Wasseraufnahme ist bekannt, dass der Ort der stärksten Aufnahme sich nicht nur mit dem Alter der Wurzel, sondern auch mit der Stärke der Wasseraufnahme (SIERP & BREWIG 1935) ändert und auch dass die individuellen Schwankungen einzelner Wurzeln erheblich sein können (ROSENE 1937, GREGORY & WOODFORD 1939).

An Svalöv-Weizen wurde durch Messung der Zuwachsgeschwindigkeit der Wurzel und der Wurzelhaare versucht, den Alter derjenigen Teile zu bestimmen, in denen die Aufnahme ihr Maximum hat. Die Ergebnisse werden in Abb. 1 wiedergegeben.

Abb. 1 A zeigt schematisch den Bau der Wurzel nach drei Tagen (von der Saat gerechnet). Die Wurzellänge betrug etwa 16 mm. Die Teilungs- und Streckungszonen betrugen je 1 mm, und 2 mm von der Spitze fing also die Ausbildung der Wurzel-

haare an. Etwa 7 mm von der Spitze hatten diese ihre volle Länge von etwa 1,5 mm erreicht. An 9 ausgewählten, gleichförmigen Wurzeln wurden die Abstände 2 und 7 mm von der Spitze vorgezeichnet (vgl. Abb.), zwischen ihnen liegt die Zuwachszone der Wurzelhaare. Nach einem weiteren Tag — beim Einsetzen der Pflanzen in den Versuch — betrug die

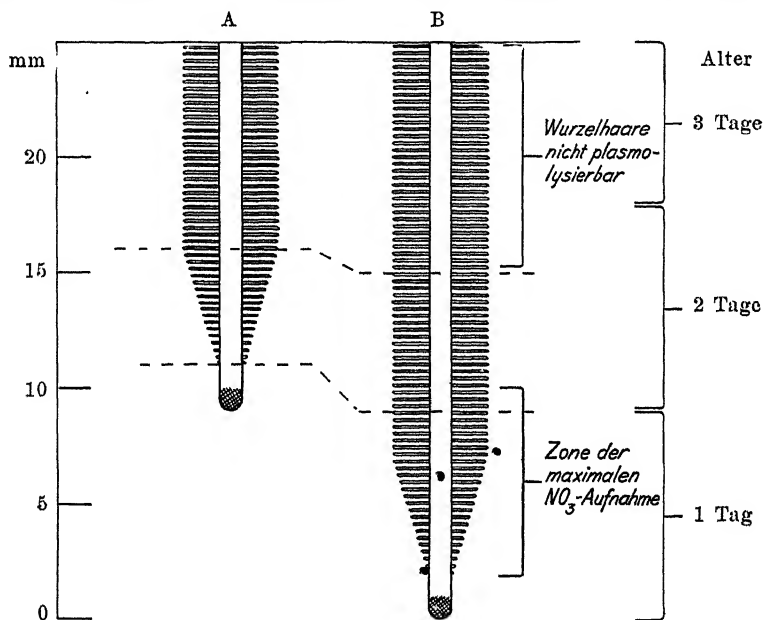


Abb. 1. Schematische Darstellung von dem Bau und Zuwachs der Weizenwurzeln. A = Wurzel 3 Tage alt, B = 4 Tage (von der Saat).

Wurzellänge 25 mm (Abb. 1 B). Der Längenzuwachs entfällt natürlich fast ausschliesslich auf den Meristemteil, der von 2 auf 9 mm zugenommen hatte und auch Wurzelhaare ausgebildet hatte. Die während des dritten Tages angelegten Wurzelhaare hatten ihre volle Länge erreicht, ebenso auch die ältesten der neu ausgebildeten. Die Wurzelhaare sind also in weniger als einem Tag ausgewachsen. Die stärkste NO_3 -Aufnahme findet, wie erwähnt, in den äussersten 10 mm statt, also in dem Teil, der während des letzten Tages ausgebildet worden ist.

Durch Plasmolyse wurde die Lebensdauer der Wurzelhaare festgestellt. Schon 15 mm von der Spitze waren nur einzelne noch plasmolysierbar, die Mehrzahl war schon abgestorben. Die Wurzelhaare durchlaufen anscheinend in diesem Fall ihre grosse Periode in weniger als 2 Tagen. Es ist deshalb natürlich, dass die NO_3 -Aufnahme in den 2—3 Tage alten Teilen unbedeutend sein muss.

In diesem Fall findet also die NO_3 -Aufnahme fast ausschliesslich in denjenigen Wurzelhaaren statt, die sich noch im Zuwachs befinden, ist dieser beendet, so hört die Aufnahme auf und die Wurzelhaare fangen sofort an, abzusterben. Es leuchtet ein, dass *der Hauptort der Nitrataufnahme denjenigen Teil ausmacht, der sich während der letzten 24 Stunden entwickelt hat. Die Dauer der intensivsten Leistung der Wurzelhaare muss deshalb in nur Stunden gemessen werden* und sie fällt auch mit der Zeit ihres Wachstums zusammen.

Es muss aber bemerkt werden, dass dies nur für die extremen Verhältnisse des Svalöv-Weizens gilt. Inwieweit die etwas gleichmässiger Aufnahme in älteren Wurzelteilen des Ultuna-Weizens mit einer langsameren Entwicklung der Wurzelhaare in Zusammenhang steht, konnte nicht entschieden werden. Man muss sich jedoch vorstellen, dass die Entwicklung und das Absterben der Wurzelhaare durch den gesamten Ernährungszustand der Wurzel beeinflusst werden und in dieser Hinsicht können natürlich grosse Unterschiede zwischen Pflanzen verschiedener Herkunft vorliegen, die gut ausreichen, um die Sortendifferenzen zu erklären. Auch muss hervorgehoben werden, dass die für die Versuche benutzten Pflanzen auf feuchtem Filtrierpapier gekeimt hatten, die Wurzeln hatten sich folglich in aqua dest. oder dampfgesättigter Luft entwickelt. In Betracht des grossen Einflusses besonders der Ca-Ionen auf die Ausbildung der Wurzelhaare kann man aus den Versuchen nicht schliessen, wie sich die Wurzeln in einer balancierten Nährlösung verhalten hätten.

Es geht aber mit aller Deutlichkeit hervor, dass die Konzentrierung der Nitrataufnahme nach der Wurzelspitze zu mit

der Entwicklung und dem Vorhandensein von funktionsfähigen Wurzelhaaren zusammenhängt. Wenn diese später degenerieren, so klingt auch die Aufnahme ab. POPESCO (1926) nebst PREVOT & STEWART (1936) haben auch den Parallelismus zwischen der Ionenaufnahme und der fortschreitenden zytologischen und histologischen Entwicklung der Wurzel — besonders der Epidermis und Endodermis — verfolgt.

Dies braucht aber nicht unbedingt auf einen Kausalzusammenhang zwischen Aufnahme und Differenzierung der inneren Teile der Wurzel zudeuten, wie auch PREVOT & STEWART hervorheben. Es zeigt nur, dass die verschiedenen Gewebe gleich schnell ihre Entwicklung vollenden und gleichzeitig in den untätigen Zustand übergehen. Die erste Bedingung für die Ionenaufnahme ist, dass die Wurzeloberfläche aus lebendigen Zellen mit nicht kutinisierten, durchlässigen Wänden besteht. Es ist dann gleichgültig, ob sie wie bei Weizen und den meisten Wurzeln mit Wurzelhaaren versehen ist oder ob diese fehlen, wofür POPESCO Beispiele gegeben hat. Ob die funktionsfähige Oberfläche dann wirklich als Resorptionsorgan dient, hängt von Umständen ab, die hier nicht behandelt werden können.

Nitrataufnahme und Nitratassimilation.

Auf eine Besprechung der bisherigen Angaben in der Literatur über den Ort der Nitratassimilation wird hier verzichtet. Eine kurze, kritische Übersicht ist früher gegeben worden (BURSTRÖM 1937) und weiterhin wird auf die monographische Bearbeitung von NIGHTINGALE (1935) verwiesen. Wegen der grossen Verschiedenheiten in Material und Untersuchungsmethoden würde eine solche Diskussion mehr die Methoden als die Ergebnisse betreffen und könnte deshalb kaum zur Aufklärung der Fragen beitragen, um so mehr als Verallgemeinerungen von vornherein ausgeschlossen sind.

Die Assimilation der Weizenwurzeln findet in erster Linie in demselben Teil wie die Aufnahme statt, also in dem jüngsten Teil der Wurzelhaarzone. Für ältere Pflanzen wurde auch — aus ganz anderen Gründen — angenommen, dass sie in naher

Beziehung zu der Aufnahme aus der Aussenlösung steht. Die Ergebnisse mit älteren und jüngeren Pflanzen stimmen somit in dieser Hinsicht gut überein.

In den Keimpflanzen tritt dazu allem Anschein nach noch ein NO_3 -Verbrauch in dem Hypokotyl oder der Wurzelbasis auf. Die Ursache hierfür dürfte, wie oben hervorgehoben wurde, sein, dass durch den Nahrungsstrom — besonders den KH-Strom — aus dem Korn hier günstige Bedingungen für die Stickstoffassimilation geschaffen werden. Man muss deshalb annehmen, dass dieser Mechanismus nur in solchen Pflanzen vorkommen kann, die noch von dem Korn mit KH in Übermass versorgt werden. Es dürfte demgemäss nur von einem Spezialfall die Rede sein.

Die Assimilation im Anschluss an die Aufnahme muss aber als die für die Pflanze normale betrachtet werden. Da die NO_3 -Aufnahme hauptsächlich in dem Teil stattfindet, der während der letzten 24 Stunden ausgebildet worden ist, dürfte auch die Assimilation hier zu finden sein. Dagegen steht sie nicht in Beziehung zur Zellteilung oder Zellstreckung.

Aus dem Umstand, dass Aufnahme und Assimilation rasch aufeinander folgen, kann geschlossen werden, dass auch die Assimilationsdauer der Zellen kurz sein muss. Eine Folge hiervon ist das recht bemerkenswerte Verhalten der Assimilation gegen Mn-Mangel in der Nährlösung. Es ist früher gezeigt worden (BURSTRÖM 1939) dass Mn für die NO_3 -Assimilation notwendig ist, in Mn-freien Lösungen beträgt die Assimilation 4 Tage alter Keimlinge null. Im allgemeinen ist es schwer, in höheren Pflanzen Mangel an den katalytisch wirkenden Spurenelementen hervorzurufen, wenn nicht mit sehr langer Versuchsdauer arbeitet wird. Die Keimpflanzen enthalten immer zum Unterhalt einer gewissen Entwicklung ausreichende Mengen der Spurenelemente, erst nachdem diese Mengen verbraucht worden sind, können Mangelercheinungen auftreten. Man denke z. B. an die Fe-Chlorose, die bei Weizen erst zum Vorschein kommt nachdem 2—3 Blätter entwickelt worden sind. Da aber die NO_3 -Assimilation vorwiegend in

dem allerjüngsten Teil der Wurzel vor sich geht, muss eben hier Mn in genügender Menge vorhanden sein. Die Beweglichkeit der Schwermetalle in der Pflanze ist aber sehr gering und ganz allgemein zeigen sich Mangelercheinungen an diesen Stoffen zuerst in den jüngsten Teilen. Die schnell wachsenden Wurzeln verlangen deshalb kontinuierliche Mn-Zufuhr in der Nährlösung, sonst tritt rasch Mn-Mangel in den neu ausgebildeten Teilen auf. Dadurch wird es möglich, in Wurzeln die sich nur drei Tage in Mn-freiem Medium entwickelt haben, Mn-Mangel hervorzurufen — d. h. die Nitratassimilation zu unterdrücken.

Warum Aufnahme und Assimilation unmittelbar aufeinander folgen, kann heute nicht entschieden werden. Aus Versuchen mit älteren Pflanzen konnte jedoch geschlossen werden, dass die beiden Prozesse nicht direkt mit einander verbunden sind und noch deutlicher geht dies daraus hervor, dass sie sich verschieden gegen Mn, Fe und gewissermassen O_2 verhalten (BURSTRÖM 1939). Man könnte geneigt sein, ganz einfach anzunehmen, dass die Assimilation, die mehr oder weniger in allen Teilen vor sich gehen kann, in den resorbierenden Zellen am schnellsten verläuft, weil hier die zu reagierenden Stoffe — NO_3 , Mn u. a. — durch den Ionenaufnahmemechanismus konzentriert werden. Diese Hypothese wurde auch zur Erklärung des Unterschiedes der Assimilationsgeschwindigkeit durch intaktes Gewebe und Gewebebrei herangezogen (a. a. O.).

Noch ein Umstand verdient in diesem Zusammenhang beachtet zu werden. Nach neusten Untersuchungen von LUNDGÄRDH (1939) wird auch die Grundatmung der Wurzel durch Mn katalysiert, und die Atmung hat auch in dem jüngsten Teil der Wurzel ihr Maximum. Wir wissen noch nicht, ob die NO_3 -Assimilation einen von jener unabhängigen Prozess darstellt oder ob die Mn-katalysierte NO_3 -Reduktion und KH -Oxydation nur zwei Seiten desselben Redoxsystems ausmachen. (Dies darf jedoch natürlich nicht so gedeutet werden, dass die Reduktion des Nitrats das unbedingte Komplement der oxydativen Grundatmung wäre; diese hat ohne Zweifel allgemeinere

Bedeutung als die exotherme Reaktion in der Zelle). Daraus würde aber folgen, dass dort, wo die Grundatmung am stärksten ist, auch die NO_3 -Reduktion erleichtert werden muss.

Nitratspeicherung und Nitrataassimilation.

In einigen Versuchen mit Svalöv-Weizen wurde auch die Anionen-Kationen Bilanz bei der Ionenaufnahme ermittelt. Dies war nur in Versuchen ohne Phosphatpuffer möglich, weil sonst die K-Konzentration der Nährlösung so hoch wird, dass eine genügend genaue Bestimmung der K-Aufnahme nicht erfolgen kann; auch müssten Na und P berücksichtigt werden, was wegen der langsamen Aufnahme dieser Ionen nicht durchführbar wäre. In jenen Versuchen (Tabellen 18, 22, 23, 25—26) enthielten die Lösungen somit nur KNO_3 1/500-mol und MnSO_4 . Die Mn-Aufnahme, die auch ermittelt wurde, erwies sich als so gering, dass sie für eine grobe Bilanzberechnung belanglos war, umsomehr als die geringe SO_4 -Aufnahme ebenso vernachlässigt wurde. Die Inkonstanz der Reaktion infolge der mangelhaften Pufferung dürfte ohne Bedeutung sein, da sich herausstellt hat, dass Weizenpflanzen in KNO_3 -Lösungen immer ein pH von etwa 6 einstellen.

Diese Pufferung beruht darauf, dass K und NO_3 annähernd gleich schnell aufgenommen werden oder mit etwas Übergewicht für NO_3 , was durch die Atmungskohlensäure ausgeglichen wird. Es geht auch aus Tabellen 18 A und 22 E hervor, dass durch ganze Keimlinge K und NO_3 in fast äquivalenten Mengen aufgenommen werden. Eine Ausnahme bildet nur Versuchsglied D in Tabellen 25—26, wo wir der seltenen Erscheinung einer bevorzugten K-Aufnahme begegnen; ich komme auf diesen Versuch unten zurück. Es kann dabei von den schon in der Pflanze vorhandenen Ionenmengen abgesehen werden, unter denen auch die An- und Kationen einander annähernd die Waage halten müssen, sofern es sich um Ionen handelt, die ausschliesslich in ionisierter Form vorliegen. Tabelle 26 zeigt, dass anfangs etwa gleich viel K vorhanden ist wie während eines Tages aufgenommen wird, dazu haben wir in dem Keim-

ling namentlich mit H_2PO_4 als Anion zu rechnen. — Weil die NO_3 -Assimilation der ganzen Keimlinge 30—50 % des aufgenommenen NO_3 beträgt, entsteht ein beträchtlicher K-Überschuss in der Pflanze, der durch anorganische Anionen, in erster Linie HCO_3 , abbalanciert werden muss. Eine derartige Bilanz von Nitrat- und Kationen-Aufnahme ist als normal anzusehen. Ganz anders verhalten sich aber die isolierten Wurzeln.

In Tabellen 18 und 22 beobachtet man, dass nach Entfernung der Sprosse die K-Aufnahme viel schneller als die NO_3 -Aufnahme abnimmt. In der Tat finden wir hier annähernde Äquivalenz nicht zwischen K- und NO_3 -Aufnahme, sondern zwischen K-Aufnahme und gespeichertem NO_3 ; sowohl in ganzen Wurzeln als auch in isolierten Segmenten. Wesentliche Abweichungen davon liegen in diesen beiden Versuchen nur für isolierte Apikalhälften vor, wo jedoch in einem Fall die K-Aufnahme in dem anderen die NO_3 -Speicherung überwiegt. Unregelmässige Werte kommen aber für die höchsten K-Konzentrationen in Tabelle 27 nebst in Tabelle 26 A vor, in diesem Fall ist auch in isolierten Wurzeln die K-Aufnahme der gesamten NO_3 -Aufnahme überlegen. Dieser Versuch ist durchwegs durch eine sehr starke K-Aufnahme gekennzeichnet, die Ursache hierfür dürfte in dem KH-Mangel bestehen: der Versuch wurde ohne Glucose angestellt. Es sollte demgemäss die NO_3 -Aufnahme gegen KH-Mangel empfindlicher als die K-Aufnahme sein. Nichtsdestoweniger kommt auch hier die schnellere Abnahme der K-Aufnahme bei Entfernung der Sprosse deutlich zum Vorschein.

Der Gesamteindruck ist, dass, wie zu erwarten war, keine strenge Abhängigkeit zwischen An- und Kationenaufnahme vorliegt. Die auffallende Tendenz zur Äquivalenz zwischen K-Aufnahme und NO_3 -Speicherung in isolierten Wurzeln ist aber nicht ohne Interesse.

In den isolierten Wurzeln fällt die Ionenaufnahme im Verhältnis zu der geringen Masse der Wurzel sehr gross aus, und die Ionenspeicherung hat natürlich ihre Grenze. Handelt es

sich dabei um Ionen wie K und NO_3 , die ausschliesslich als freie Ionen auftreten, müssen diese in einigermaßen äquivalenten Mengen gespeichert werden, weil ein zu grosses Übergewicht einer Ionenart zu unnormalen Ladungsverhältnissen und dadurch zu vitalen Störungen der Zellstruktur führen muss. In den isolierten Wurzeln wird im Grossen und Ganzen KNO_3 gespeichert, und das im Überschuss aufgenommene NO_3 wird

Tabelle 29.

KNO_3 μmol pro g Frischgewicht in verschiedenen Teilen der Keimlinge nach einem Tag in KNO_3 1/500-mol (= 2 μmol pro g Lösung). Maximum- und Minimumwerte.

Teile	NO_3 μmol pro g
Spross	4,6—4,8
Wurzel, Durchschnitt	21,2—24,6
Basale Wurzelhälfte	15,1—21,5
Apikale Wurzelhälfte	24,8—30,9
Wurzel ohne Spitze	12,2—14,3

assimiliert. Die Verhältnisse können auch richtiger folgendermassen dargestellt werden. *Wegen der steigenden KNO_3 -Konzentration in den Zellen klingt die Ionenaufnahme allmählich ab, die NO_3 -Aufnahme geht aber in dem Masse weiter wie NO_3 in der Wurzel durch Assimilation verbraucht wird.*

Die KNO_3 Konzentration der Wurzel nach 1 Tag unterliegt nur kleinen Schwankungen, die Extremwerte für Svalöv-Weizen sind in Tabelle 29 zusammengestellt worden. Der Apikalteil der Wurzel hat einen bis 50 % höheren NO_3 -Gehalt als der basale. Im Durchschnitt sind alle Konzentrationen 10—15 Mal höher als in der Nährlösung, wenn man damit rechnet, dass das NO_3 auf das ganze Volumen der Wurzel gleichmässig verteilt ist. Der Ultuna-Weizen gibt ähnliche Werte, die nur etwas höher liegen, um 27—36 μmol pro g.

Keine wesentliche Unterschiede liegen zwischen isolierten und intakten Wurzeln vor. In diesen verhindert jedoch die

Speicherung in der Wurzel nicht eine ergiebigere Aufnahme, dank des kontinuierlichen Stoffstromes in den Spross. Man erhält den Eindruck, dass die Konzentration in der Wurzel hauptsächlich von der Aussenkonzentration und weniger von der Aufnahme abhängt. Nur bei niedrigen äusseren NO_3 -Gehalten besteht aber eine einigermaßen einfache Beziehung zwischen diesen und der Speicherung, bei höheren treten verwickeltere Verhältnisse auf (Tabelle 23), auf welche hier nicht näher eingegangen werden soll. Die Speicherung in der Wurzel wird wahrscheinlich durch das Zusammenwirken mehrerer Faktoren bestimmt z. B. Aussenkonzentration, Aufnahme- geschwindigkeit, Aufnahme des begleitenden Kations, Zuwachs; den entschiedenen Einfluss scheint jedoch die erstgenannte zu haben. Das gegenwärtige Versuchsmaterial liefert keine Anhaltspunkte für die Annahme, dass auch die Assimilations- geschwindigkeit daran beteiligt ist. Dies ging auch aus früheren Versuchen hervor, nach welchen die Assimilation innerhalb weiter Grenzen durch Variieren der Mn-Zufuhr verändert werden konnte, ohne dass dadurch die Speicherung beeinflusst wurde (BURSTRÖM 1939). Die NO_3 -Aufnahme der Weizenwurzel ist im Verhältnis zum NO_3 -Verbrauch »überdimensioniert«, was die primäre Ursache zu der Speicherung darstellt. Wie die Speicherung in jedem Fall *quantitativ* ausfällt, entzieht sich noch einer genauen Interpretierung.

Bemerkenswert ist ferner die starke Abnahme der Speicherung in dekapitierten Wurzeln — d. h. in solchen, die ihrer Vegetationspunkte beraubt worden sind. (Tabellen 19, 22, 24, vgl. auch 29). Gleichzeitig wird die Assimilation kaum beeinflusst. Zuerst kann festgestellt werden, dass nicht von Verlusten des in den Meristemen gespeicherten Nitrats die Rede ist. Diese Menge erwies sich als so gering, dass sie nicht mit befriedigender Genauigkeit ermittelt werden konnte. Auch PORRICO (1926) konnte in den Meristemen kein NO_3 nachweisen. Aus z. B. Tabelle 22 kann aber berechnet werden, wieviel Nitrat das Meristem höchstens enthalten kann. In Tabelle 22 A enthält die basale Wurzelhälfte $12,0 \mu\text{mol}$ und

die apikale einschliesslich des Meristems $17,1 \mu\text{mol NO}_3$; die beiden Teile waren gleich lang und von demselben Gewicht, dürften auch etwa denselben Bau besitzen. Da die Speicherung der apikalen Hälfte die der basalen nur um $5,1 \mu\text{mol}$ übertrifft, könnte die Speicherung in dem Meristem höchstens dasselbe betragen, in der Tat war sie viel niedriger. Wird die Spitze entfernt, sinkt aber die Speicherung um $15,1 \mu\text{mol}$ oder auf weniger als die Hälfte herab.

Tabelle 30.

Die Einwirkung von Zerschneiden der Pflanze auf Nitratspeicherung und Assimilation. KNO_3 1/500-mol. Puffer 1/200-mol, pH 5,5. Glucose 1/100-mol. NO_3 μmol pro 30 Pflanzen.

Teile	NO_3		
	Aufgenommen	Gespeichert	Assimiliert
Keimling ohne Korn	23,2	11,8	11,4
Wurzel	22,1	10,8	11,3
Wurzel in 3 mm Segmente zerschnitten	10,5	1,6	8,9
Spross	5,6	1,0	4,6
Spross, zerschnitten	3,5	0	3,5

Dass die Ursache hierfür nicht in einer spezifischen Einwirkung des Meristems auf die Aufnahme besteht, geht daraus hervor, dass durch Zerschneiden des Hauptteils der Wurzel in kleinere Segmente ein ähnlicher, aber viel stärkerer Effekt, hervorgebracht werden kann. Diese Erscheinung wurde in einer Reihe von Versuchen verfolgt, die aber so gut übereinstimmende Ergebnisse lieferten, dass nur ein Beispiel hier mitgeteilt werden soll (Tabelle 30).

Werden die Wurzeln in Stückchen von etwa 3 mm zerteilt, so nimmt die Assimilation nur um 20 % ab, während die Speicherung der Segmente bis auf null herabsinkt. Nun wissen wir aber, dass die Assimilation von der Aufnahme abhängig ist: beim Unterdrücken der NO_3 -Aufnahme sinkt auch der

NO_3 -Verbrauch. Die Assimilation beträgt im allgemeinen rund 50 % der aufgenommenen Menge, was in ganzen Pflanzen und Wurzeln auch in diesem Versuch zutrifft, unter Umständen kann sie kleiner werden, bei guter Durchlüftung selten grösser. Eine Assimilation von fast 100 % der Aufnahme ist somit kaum wahrscheinlich. Auch die verwundeten Zellen der Schnittflächen können dafür nicht verantwortlich sein; in Pflanzenbrei, in dem die Mehrzahl der Zellen mehr oder weniger beschädigt sind, wird viel geringere Assimilation als in intakten Wurzeln erhalten (BURSTRÖM 1939). Es muss deshalb angenommen werden, dass die *wirkliche* Aufnahme durch die Wurzelsegmente viel grösser als die *scheinbare* ist, und dass diese die aufgenommenen Ionenmengen nicht zurückhalten können, sondern wieder an die Lösung abgeben. Während der Passage durch die Gewebe geht dabei die Assimilation normal vor sich.

Kehren wir zur Einwirkung der Wurzeldekapitierung zurück. Augenscheinlich haben wir hier dieselbe Erscheinung: unverminderte Assimilation aber ein Unvermögen der Wurzel zur Aufspeicherung des Nitrats in normaler Menge. Dass gerade die Wurzelspitze eine solche Einwirkung haben soll, scheint recht wahrscheinlich. In der Wurzel geht ein Stoffstrom gegen die wachsende Spitze, wird diese entfernt, so muss der Transport gestört werden oder Stoffabgabe erfolgen. Es kann hier auf den Nachweis von SIERP & BREWIG (1935) hingewiesen werden, dass das Spitzenmeristem normaler Wurzeln Wasser abgibt. Diese Erscheinung konnte zwar von ROSENE (1937) nicht bestätigt werden, sie ist geneigt, den Befund von SIERP und BREWIG auf eine unfreiwillige Beschädigung der Spitzen zurückzuführen. Die Ähnlichkeit mit dem von uns postulierten Vorgang bei der Nitrataufnahme ist jedenfalls unbestreitbar. Tabelle 24 zeigt auch dass die Abnahme der Speicherung beträchtlich kleiner ist, wenn die dekapitierten Wurzeln mit Sprossen zusammenhängen, als wenn sie isoliert sind. In jenem Fall besteht ein auch in den Spross gerichteter Stoffstrom, der einen Teil des aufgenommenen Nitrats in Anspruch nimmt und so in dem Keimling zurückhält.

Diese Erscheinung ist methodisch insofern von Interesse, als sie deutlich dartut, dass wenn auch die Assimilation in Wurzelsegmenten fast normal verläuft, die Aufnahme und Speicherung nur in ganzen Wurzeln verfolgt werden können.

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wird über die Aufnahme, Speicherung und Assimilation von Nitrat im Dunkeln durch 4 Tage alte Weizenkeimlinge berichtet.

Die NO_3 -Aufnahme der Wurzel findet in der Wurzelhaarzone statt, die stärkste Aufnahme findet man in dem Teil der Wurzel, der nicht mehr als einen Tag alt ist und bei dem die Wurzelhaare sich noch im Zuwachs befinden. Die kurze Funktionsdauer der Wurzelhaare (< 1 Tag) beruht auf ihr schnelles Absterben. Die Versuche wurden mit zwei verschiedenen Weizensorten ausgeführt, in der einen hatten die Sprosse (Blätter + Koleoptil) nur geringe Einwirkung auf die Aufnahmegeschwindigkeit, in der anderen wurde eine stark beschleunigende Einwirkung wahrgenommen, jedoch nur bei Entwicklung in Luft. Die Ursache dafür konnte nicht festgestellt werden, es handelte sich um Einfluss der Transpiration noch des Zuwachses. Der Beitrag des Meristems der Wurzelspitze, wo Wurzelhaare fehlen, an der Aufnahme ist unbedeutend.

Die NO_3 -Assimilation geht in demselben Teil der Wurzel wie die Aufnahme vor sich und steht in naher Beziehung zu jener. In dem älteren Teil der Wurzel (2—3 Tage alt) ist die Assimilation unbedeutend, auch die Sprosse scheinen nicht direkt daran beteiligt zu sein. Dagegen wurde ein NO_3 -Verbrauch in dem basalsten Teil der Wurzel oder Hypokotyl nachgewiesen; sie wurde so erklärt, dass die KH-Zufuhr aus dem Korn hier reichlich ist, was die Assimilation fördert.

Speicherung von NO_3 kommt auch in erster Linie in dem apikalen Teil der Wurzel mit Ausnahme des Meristems vor. Der Gehalt ist niedriger in dem Basalteil der Wurzel und

besonders in dem Spross. Er ist weitgehend von der Assimilationsgeschwindigkeit unabhängig und wird hauptsächlich von dem NO_3 -Gehalt der Nährlösung bestimmt. In isolierten Wurzeln werden aus KNO_3 , K und NO_3 in annähernd äquivalenten Mengen gespeichert, und das im Überschuss aufgenommene NO_3 wird assimiliert. In intakten Keimlingen werden dagegen K und NO_3 fast äquivalent aufgenommen, und weil die Assimilation 30—50 % der Aufnahme beträgt, entsteht ein K-Überschuss in der Pflanze. Bei KH-Mangel sinkt die NO_3 -Aufnahme (und Speicherung) schnell ab, während die K-Aufnahme mehr unbeeinflusst ist.

Für die Ausarbeitung einer geeigneten Methode zur Untersuchung der NO_3 -Assimilation an leicht zu erhaltendem, gleichförmigem Material sind folgende Beobachtungen von Wert.

Werden die Körner von den Keimlingen entfernt, so leisten die Pflanzen eine normale Nitrataassimilation wenn sie mit Glucose in einer Konzentration von $1/30$ — $1/40$ -mol gespeist werden. Niedrigere Glucosekonzentrationen, die praktisch vorteilhafter sind (etwa $1/100$ -mol) geben geringere Assimilation. Werden die Wurzeln von den oberirdischen Teilen isoliert geht die Assimilation auch normal vor sich, es wird dadurch nur die Assimilationsgeschwindigkeit mehr oder weniger herabgesetzt, bisweilen wird die Abnahme unbedeutend. Nochmaliges Zerschneiden der Wurzeln in kleinere Stücke vermindert die Assimilation nur unbedeutend. Die Speicherung wird aber dadurch stark unterdrückt, wahrscheinlich wegen mangelnder Fähigkeit der kleinen Segmente zum Zurückhalten des aufgenommenen Nitrats. In derselben Richtung wirkt besonders ein Abschneiden des Wurzelvegetationspunktes ein.

Von den Sprossen isolierte aber im Übrigen unbeschädigte Wurzeln stellen ein geeignetes Material zur Untersuchung des Mechanismus der Assimilation dar. Weil die isolierten Wurzeln anscheinend schnell mit den leicht aufgenommenen Ionen gesättigt werden, kann dagegen die normale Ionenspeicherung bei einer Versuchsdauer von einem Tag nur in intakten Keimlingen verfolgt werden.

Sammanfattning.

I arbetet redogöres för nitrats upptagning, lagring och assimilation i mörker i 4 dygn gamla groddplantor av vete.

Nitratupptagningen äger rum i rothårszonen, framför allt i den del som ej är mer än 1 dygn gammal, och där rothåren ännu befinna sig i tillväxt. Rothårens korta funktionstid (<1 dygn) beror på att de hastigt förstöras. — Försöken utfördes på två vetepartier av samma sort men av olika härstamning, i det ena slaget hade skotten (blad + koleoptil) ringa inverkan på upptagningen, i den andra åstadkommo de en kraftig ökning, dock endast om de utvecklade sig i luft. Det rothårsfria spetsmeristemets medverkan vid upptagningen är obetydlig.

Nitratassimilationen äger huvudsakligen rum i samma del av roten som upptagningen och i nära anslutning till denna. I rotens äldre del (2—3 dygn gammal) är assimilationen svagare, skotten synas ej heller direkt deltaga i denna. Däremot föresiggår en viss nitratförbrukning i rotbasen eller hypokotylen, vilket kan anses bero på den här rikliga tillgången på kolhydrat som härstamma från kornet. Rotvegetationspunkten deltagar ej i assimilationen.

Lagring av nitrat förekommer likaledes i rotens apikala del med undantag av vegetationspunkten. Nitrathalten sjunker mot rotbasen och är särskilt låg i skottet. Den är tämligen oberoende av assimilationshastigheten och bestämmes framför allt av nitrathalten i ytterlösningen. I isolerade rötter lagras K och NO_3 (upptaget ur KNO_3) i någorlunda ekvivalenta mängder, det i överskott upptagna nitrats assimileras. I intakta plantor däremot tagas K och NO_3 upp i nära lika mängder, och då nitrats till 30—50 % assimileras, kvarstår ett K-överskott i plantan. Vid KH-brist minskar upptagningen (och lagringen) av nitrat starkt, medan K-upptagningen påverkas mindre.

För utarbetandet av en lämplig metod för undersökning av nitratassimilationen i ett lätt erhållet, enhetligt försöksmaterial äro följande resultat av vikt.

Avlägsnas kornen från groddplantorna fortgår assimilationen normalt om plantorna förses med glykos i en koncentration av 1/30—1/40-mol; lägre koncentrationer, som i praktiken ställa sig fördelaktigare (ca 1/100-mol) ge lägre assimilationsintensitet. Från skotten isolerade rötter assimilera även nitrat normalt, assimilationshastigheten nedsättes dock mer eller mindre, i vissa fall obetydligt. Ytterligare sönderdelning av rötterna i mindre segment nedsätter knappt assimilationen. Lagringen av nitrat i rotsegmenten avtager däremot starkt, sannolikt beroende på en oförmåga hos dessa att kvarhålla det upptagna nitraten. I samma riktning verkar framför allt ett avskiljande av rotens spetsmeristem.

Från skotten isolerade, men i övrigt oskadade, rötter lämpa sig väl som försöksobjekt för undersökning av nitrataassimilationens mekanism. Nitratlagringen bör däremot av anförda skäl vid en försökstid av 1 dygn lämpligen endast studeras i intakta plantor.

Undersökningen utgör ett led i en serie arbeten, som utföras på bekostnad av K. Lantbruksakademien.

Literatur.

- BURSTRÖM, H., 1937. Über die Verarbeitung von Nitrat in Weizenpflanzen, — Ann. d. Landw. Hochsch. Schwed. 6, S. 1.
- , 1939. Über die Schwermetallkatalyse der Nitrataassimilation. — Planta 29, S. 292.
- GREGORY, F. G. & WOODFORD, H. K., 1939. An apparatus for the study of the oxygen, salt, and water uptake of various zones of the root, with some preliminary results with *Vicia Faba*. — Ann. Bot. 3, p. 147.
- LUNDEGÅRDH, H., 1939. Mangan als Katalysator der Pflanzenatmung. — Planta 29, S. 407.
- NIGHTINGALE, G. T., 1937. The nitrogen nutrition of green plants. — The Bot. Rev. 3, p. 85.
- POPESCO, ST., 1926. Recherches sur la région absorbante de la racine. — Bull. Agr. Buc. 14.
- PREVOT, P. & STEWARD, F. C., 1936. Salient features of the root system relative to the problem of salt absorption. — Plant Phys. 11, p. 509.
- 19—38695. *Lantbrukshögskolans Annaler*. Vol. 7.

- ROSENE, HILDA F., 1937. Distribution of the velocities of absorption of water in the onion root. — *Plant phys.* 12, p. 1.
- SIERP, H. & BREWIG, A., 1935. Quantitative Untersuchungen über die Absorptionszone der Wurzeln. — *Jährb. wiss. Bot.* 82, S. 99.
- SIDERIS, C. P., 1935. The assimilation of nitrates by higher plants. — *Prakt. Akad. Athenon* 10, p. 273.
- SIDERIS, C. P., KRAUSS, B. H. & YOUNG, H. Y., 1938. Assimilation of ammonium and nitrate by pineapple plants in nutrient solutions and its effect on nitrogenous and carbohydrate constituents. — *Plant Phys.* 13, p. 489.
-

Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiculicola*. IV.

Von G. BJÄLFVE, RAGNAR NILSSON und DAGMAR BURSTRÖM.

Aus dem Institut für Mikrobiologie.

In unseren vorhergehenden Arbeiten über Zuwachsfaktoren bei *B. radiculicola* (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938 *a, b*, 1939 *a*) sind die Versuche mit ein und demselben auf *Trifolium pratense* eingestellten Stamm ausgeführt worden, der im Pflanzenversuch ein gutes Knöllchenbildungsvermögen besass. Bei diesem Stamm haben wir u. a. feststellen können, dass Vitamin B₁ zuwachsfördernd wirkt, was besonders klar bei Kombinationsversuchen mit Ätherextrakt aus Hefe zum Vorschein kommt.

Selbstverständlich war es von grösstem Interesse zu erforschen, ob diese Wirkung von Vitamin B₁ für die Kleegruppe spezifisch ist, oder ob sie bei sämtlichen Gruppen von *B. radiculicola* festgestellt werden kann.

Als Grundsubstrat bei unseren Wachstumsversuchen haben wir als Regel das synthetische Medium von ALLISON & HOOVER (1934) verwendet. Die zur Impfung benutzte Kultur wuchs zunächst auf Saccharose-Strohextrakt (BJÄLFVE & NILSSON 1938) vollständig aus und wurde dann mit der Allison'schen Lösung derart verdünnt, dass die Impfmenge nur 1‰ von der Ausgangskultur ausmachte, was eine Zellenzahl von 500,000 pro ml entspricht. Es scheint nicht undenkbar zu sein, dass die mit Vitamin B₁ als Zuwachsfaktor erhaltene kräftige Wirkung zum Teil darin begründet ist, dass das Impfsubstrat, nämlich der

Strohextrakt, verhältnismässig wenig von diesem Faktor enthält. Es war deshalb von Interesse zu erforschen, ob ein Zusatz von Vitamin B₁ zu dem Saccharose-Strohextrakt auf die vorher benutzte *Radicolakultur* zuwachs-fördernd wirkt. Für diesen Versuch wurde der Nährboden in folgender Weise bereitet: 5 g Winterweizenstroh + 5 g Saccharose + 1 Liter Leitungswasser wurden $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbad gekocht, danach wurde filtriert. Nach Zugabe von 12 % Gelatine, Neutralisierung, Klärung mit Eiweiss und Filtrierung wurden Röhrchen mit je 5 ml von diesem Substrat beschickt. Eine Anzahl der Röhrchen wurde mit Vitamin B₁ in einer Menge von 0,08 γ /ml versetzt. Nach Autoklavierung wurde der Nährboden als Schräggelatine verwendet. Drei Parallelen sowohl ohne als mit Zugabe von Vitamin B₁ wurden mit einer Platinöse von einer etwa 14 Tage alten Kultur geimpft, welche auf Saccharose-Strohextrakt gezüchtet worden war. Nach einigen Tagen machte sich eine deutliche Differenz mit Bezug auf den Zuwachs in den Röhrchen mit und ohne Zusatz von Vitamin B₁ bemerkbar, und zwar in der Weise, dass die Vegetation in den erstgenannten bedeutend kräftiger war als in den letztgenannten. Dieser Unterschied wird immer mehr ausgeprägt, als in den vertikal gestellten Röhrchen die Kultur allmählich hinunterfliesst.

Da also bei dem benutzten Bakterienstamm die Wirkung von Vitamin B₁ auch hier sehr deutlich zum Vorschein kommt, haben wir zunächst diese einfache Methode auch für entsprechende Prüfungen sowohl bei anderen Stämmen innerhalb der Klee-Gruppe wie auch bei anderen Gruppen von *B. radicola* benutzt.

Von verschiedenen Kulturen auf sterilisierter Ackererde wurde eine kleine Impfmenge auf Gelatineröhrchen mit Saccharose-Strohextrakt ausgesät. Von den ausgewachsenen Kulturen wurde später je eine Platinöse auf das entsprechende, flüssige Substrat in Freudenreich-Kolben überimpft. Auf dieses Substrat wurden nunmehr die verschiedenen Stämme mit einer Zwischenzeit von 14 Tagen 3-mal weitergeimpft. Als

Tabelle 1.

Vegetation von Stämmen innerhalb verschiedener Gruppen von *B. radiculicola* auf Saccharose-Strohextrakt-Gelatine ohne und mit Zusatz von Vitamin B₁. Dritte Passage. Bestimmung nach 14 Tagen.

Gruppen und Stämme	Vegetationsgrad	
	Ohne Zusatz von Vitamin B ₁	Mit Zusatz von Vitamin B ₁
Luzernengruppe.		
<i>Medicago sativa</i> 1	+++++	+++++
„ „ 2	+++++	+++++
„ „ 3	+++++	+++++
Kleegruppe.		
<i>Trifolium pratense</i> 1	++	+++++
„ „ 2	++	+++++
„ „ 3	+++++	+++++
„ „ 4	+++++	+++++
„ „ 5	+++++	+++++
<i>Trifolium hybridum</i>	++	+++++
Erbsengruppe.		
<i>Pisum sativum</i>	+++++	+++++
<i>Lathyrus pratensis</i>	+•+++	+++++
<i>Lathyrus odoratus</i>	+++++	+++++
<i>Vicia sativa</i>	+++++	+++++
<i>Vicia Faba</i>	+++++	+++++
Bohnengruppe.		
<i>Phaseolus vulgaris</i> 1	+++++	+++++
„ „ 2	+++++	+++++
Lupinengruppe.		
<i>Lupinus angustifolius</i> 1	+	+
„ „ 2	+	+
Sojabohnengruppe.		
<i>Glycine Max</i>	+	+
Kuherbsengruppe.		
<i>Lespedeza</i> 1	+	+
„ 2	+	+
Lotusgruppe.		
<i>Lotus corniculatus</i> 1	+	+
„ „ 2	+	+

die verschiedenen Passagen 14 Tage alt waren, wurden Parallelproben mittels einer Platinöse auf Gelatineröhrchen mit Saccharose-Strohextrakt in 2 Serien ausgelegt, von denen die eine mit Vitamin B₁ in der oben angegebenen Konzentration versetzt worden war. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 1 zusammengestellt worden. Die verschiedenen Passagen werden indessen nicht einzeln beschrieben, weil sie untereinander keine Differenz aufzeigen.

Wie aus der Tabelle deutlich hervorgeht, wurde nur innerhalb einer der untersuchten Gruppen von *B. radicola* eine deutliche Wirkung von Vitamin B₁ beobachtet, und auch innerhalb dieser Gruppe nur bei der Hälfte der untersuchten Stämme.

Da indessen unsere Beobachtungen zu der Vermutung Anlass geben, dass der benutzte Nährboden mit Strohextrakt eine wenn auch verhältnismässig geringe Menge von Vitamin B₁ enthält, haben wir es für zweckmässig gehalten, die oben erwähnten Ergebnisse durch einige Versuche auf einem synthetischen Medium zu ergänzen. Dieses Medium wurde sowohl allein als auch mit Zusatz von Ätherextrakt aus Hefe und Vitamin B₁, einzeln und in Kombination, benutzt. In dieser Weise wurden 4 Stämme der Kleegruppe und 2 Stämme der Erbsengruppe untersucht. Als Grundsubstrat wurde das früher angegebene synthetische Medium von Allison & Hoover verwendet, und die Impfmenge betrug wie vorher 1 ‰ von der auf Saccharose-Strohextrakt ausgewachsenen Kultur. Zu diesem Zwecke wurde der vorher studierte Ätherextrakt 1 (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938 b, S. 309) verwendet. Die Anordnung der Versuche geht aus Tabelle 2 hervor. Es werden hier auch die Ergebnisse erwähnt, die mit diesem Ätherextrakt und der vorher benutzten Kultur von *B. radicola*, hier als *Trifolium pratense* 1 bezeichnet, früher erhalten worden sind (l. c.).

Wie ohne weiteres aus den Tabellen 1 und 2 hervorgeht, liegt eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Versuchsergebnissen vor. Betreffend die in dem letz-

Tabelle 2.

Vegetation von Stämmen innerhalb der Klee- und Erbsengruppen auf synthetischem Medium. Millionen Bakterien in 1 ml nach 13 Tagen.¹

Gruppen und Stämme	Ohne Zusätze	Mit Zusätze von		
		0,08 γ B ₁ pro ml	0,01 ml Ätherextrakt pro ml	0,08 γ B ₁ und 0,01 ml Ätherextrakt pro ml
Kleegruppe.				
<i>Trifolium pratense</i> 1 . .	7	35	45	660
» » 2 . .	7	45	90	520
» » 3 . .	6	45	700	670
» » 4 . .	10	43	830	910
<i>Trifolium hybridum</i> . .	6	48	78	470
Erbsengruppe.				
<i>Pisum sativum</i>	13	20	450	510
<i>Vicia sativa</i>	23	30	510	520

¹ Für *Trifolium pratense* 1 nach 11 Tagen.

teren Falle untersuchten Stämme der Klee- und Erbsengruppen haben wir eine ausgesprochene Wirkung des Vitamin B₁-Zusatzes als Komplement zu dem Ätherextrakt nur innerhalb der erstgenannten Gruppe gefunden und nur bei 3 von den untersuchten 5 Stämmen. Wie ersichtlich, sind aber die Ausschläge sehr scharf. Ein Zusatz von Vitamin B₁ allein zu dem synthetischen Medium scheint den Zuwachs innerhalb der Kleegruppe etwas zu fördern, was dagegen innerhalb der Erbsengruppe kaum der Fall ist. Ätherextrakt allein in der verwendeten Konzentration ruft einen verhältnismässig guten Zuwachs innerhalb der Erbsengruppe hervor, was auch für zwei der untersuchten Stämme innerhalb der Kleegruppe gilt. Die übrigen drei Stämme innerhalb dieser Gruppe erreichen eine

verhältnismässig kleine Zellenzahl durch einen Zusatz von Ätherextrakt allein. Ein gleichzeitiger Zusatz von Vitamin B₁ fördert in diesem Falle den Zuwachs ausserordentlich.

Diskussion.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung, welche früher in einer kurzen Zusammenfassung (BJÄLFVE, NILSSON & BURSTRÖM 1938) veröffentlicht worden sind, zeigen deutlich, dass die verschiedenen Kleestämme nicht denselben Bedarf von Vitamin B₁ haben, während Bakterien innerhalb anderer Gruppen von *B. radiculicola*, wie es sich hier herausgestellt hat, keinen Zusatz von diesem Wachstumsfaktor brauchen. Man dürfte auch die erhaltenen Ergebnisse bezüglich der Klee Bakterien in der Weise deuten können, dass einige Stämme Vitamin B₁ selbst synthetisieren, während andere dieses Vermögen vermutlich nicht besitzen. Die Tatsache, dass unter den Stämmen innerhalb derselben Gruppe eine derartige Differenzierung vorliegt, ist ja an sich sehr eigentümlich und dürfte eine nähere Untersuchung verdienen. Aus der Literatur wissen wir indessen, dass Stämme, welche mit Bezug auf Knöllchenbildungsvermögen derselben Gruppe gehören, unter Umständen in anderen Beziehungen Unterschiede aufzeigen. So wissen wir z. B., dass Stämme, die auf derselben Pflanze Knöllchen bilden, sich in serologischer Hinsicht im allgemeinen gleich verhalten, aber dass es auch Ausnahme von dieser Regel gibt.

Was das Vitamin B₁-Bedürfnis von *B. radiculicola* betrifft, heben LAIRD & WEST (1938) hervor, dass Vitamin B₁ nicht mit Sicherheit als einen Aktivator für diesen Organismus betrachtet werden kann. In Kombination mit Bios II A oder II B haben sie nur eine geringfügige wenn auch konstante stimulierende Wirkung durch Vitamin B₁-Zusatz in verhältnismässig hoher Konzentration, nämlich 1 γ /ml, erhalten. Früher haben wir die Wirkung höherer Zusätze von Vitamin B₁ als der von uns gewöhnlich verwendeten Menge von 0,08 γ /ml

untersucht (NILSSON, BRÄLFVE & BURSTRÖM 1938 b) und dabei eine wenn auch nur unbedeutend verstärkte Wirkung gefunden. Der Grund dazu, dass Laird & West keine eigentliche Wirkung von Vitamin B₁ erhalten haben, dürfte aber darauf zurückzuführen sein, dass der Nährboden schon mit den Biosfraktionen diesen Zuwachsfaktor erhält, oder auch dass diese Autoren mit solchen Stämmen von *B. radiculicola* gearbeitet haben, die Vitamin B₁ selbst zu synthetisieren vermögen.

WEST & WILSON (1939) sind der Ansicht, dass *Rhizobium trifolii* alle organischen Substanzen synthetisiert, die für seinen Zuwachs erforderlich sind. Sie sind indessen der Meinung, dass der Organismus für dessen anfänglichen Anwuchs eine kleinere Menge eines thermolabilen »*Rhizobium*-Faktors» braucht, welcher Faktor später synthetisiert wird und der, nach diesen Autoren, Thiamin und Riboflavin (Vitamin B₁ und Lactoflavin) sowie möglicherweise weitere nicht identifizierte Stoffe enthalten dürfte.

Die hier vorgelegten Ergebnisse deuten aber darauf hin, dass Vitamin B₁ nur von einem Teil der Kleestämme synthetisiert werden kann, und in nachfolgender Arbeit (NILSSON, BRÄLFVE & BURSTRÖM 1939 b) haben wir zeigen können, dass Biotin ein notwendiger Zuwachsfaktor für die von uns untersuchten Kleestämme ist. (Die in dieser Arbeit unter den Bezeichnungen *B. radiculicola* 1—3 Beschriebenen Stämme sind mit den in der vorliegenden Arbeit studierten Stämmen *Trifolium pratense* 1—3 identisch.) Wie früher erwähnt, wurde die von uns benutzte Impfkultur zuerst auf Saccharose-Strohextrakt bis zu vollständigem Auswuchs gezüchtet, auf einem Nährboden also, der wahrscheinlich an den betreffenden Wuchsstoffen verhältnismässig arm ist. Eben dadurch wird vielleicht in unserer Versuchsanordnung vermieden, dass mit der Impfung diese Zuwachsfaktoren in solchen Quantitäten mitgeschleppt werden, dass sie für das Wachstum eine entscheidende Rolle spielen. Aus dem oben beschriebenen Versuch geht nun aber überdies hervor, dass ein Teil der Kleestämme wahrscheinlich nicht das Vermögen besitzen Vitamin B₁ in notwendigen

Mengen zu synthetisieren. Aus Tabelle 2 ersehen wir nämlich, dass die Kleestämme 1, 2 und 5 auf synthetischem Medium mit Zugabe von Ätherextrakt ein Wachstum von etwa 70 Mill./ml erreichen, während bei gleichzeitiger Zugabe von Vitamin B₁ das Wachstum 550 Millionen Bakterien pro ml beträgt.

Sammanfattning.

I våra tidigare arbeten över tillväxtfaktorer för *B. radicola* ha vi kunnat fastställa, att flera biofaktorer samverka vid uppbyggandet av dessa organismers cellsubstans. Det har härvid klarlagts, att vitamin B₁ verkar som tillväxtfaktor för den av oss använda bakteriestammen av *Trifolium pratense*.

Givetvis har det varit av mycket stort intresse att få undersöka, om denna verkan av vitamin B₁ är specifik för klövergruppen eller om den kan påvisas för samtliga grupper av *B. radicola*.

Enär verkan av vitamin B₁ kunde konstateras för den förut använda bakteriestammen för klöver på fast substrat med halmextrakt och sackaros, prövades såväl flera stammar av klövergruppen som andra grupper på detta medium. Resultaten härav ha sammanställts i tabell 1, varav framgår, att verkan av vitamin B₁ egendomligt nog endast framkom inom klövergruppen och därvid endast beträffande hälften av de undersökta stammarna.

Då halmextrakt enligt vår erfarenhet säkerligen innehåller vitamin B₁ om också i relativt liten mängd, prövades en del klöver- och ärtstammar dessutom på syntetiskt medium såväl enbart som med tillsats av eterextrakt av jäst och vitamin B₁, både var för sig och tillsammans. Erhållna resultat, som finnas angivna i tabell 2, utföllo i full överensstämmelse med ovannämnda.

Genom dessa undersökningar har det alltså framkommit, att olika klöverstammar ha olika behov av vitamin B₁ under det att bakterier inom andra grupper av *B. radicola* ej synas

ha någon fordran på en tillsats av denna tillväxtfaktor. Man torde också kunna tyda resultaten beträffande klöverbakterierna på så sätt, att en del stammar själva syntetisera vitamin B₁ under det att andra sakna denna förmåga.

Literaturverzeichnis.

- ALLISON, F. E. & HOOVER, S. R., 1934. An accessory factor for legume nodule bacteria. — J. Bact. 27, p. 561.
- BJÄLFVE, G. & NILSSON, R., 1938. Stroh als Nährboden für *Bact. radiculicola* und andere Mikroorganismen. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, Vol. 5, S. 71.
- BJÄLFVE, G., NILSSON, R. & BURSTRÖM, DAGMAR, 1938. Vitamin B₁ als Zuwachsfaktor für *Bact. radiculicola*. III. — Naturwiss., Vol. 26, S. 840.
- LAIRD, D. G. & WEST, P. M., 1938. The influence of bios on nodule bacteria and legumes. — Can. J. Res., Vol. 16, p. 347.
- NILSSON, R., BJÄLFVE, G. & BURSTRÖM, DAGMAR, 1938 a. Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiculicola*. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, Vol. 5, S. 291.
- NILSSON, R., BJÄLFVE, G. & BURSTRÖM, DAGMAR, 1938 b. Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiculicola*. II. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, Vol. 6, S. 299.
- NILSSON, R., BJÄLFVE, G. & BURSTRÖM, DAGMAR, 1939 a. Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiculicola*. III. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, Vol. 7, S. 51.
- NILSSON, R., BJÄLFVE, G. & BURSTRÖM, DAGMAR, 1939 b. Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiculicola*. V. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, Vol. 7, S. 301.
- WEST, P. M. & WILSON, P. W., 1939. Growth factor requirements of the root nodule bacteria. — J. Bact. 37, p. 161.

Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radicicola*. V.

Von RAGNAR NILSSON, G. BJÄLFVE und DAGMAR BURSTRÖM.

Aus dem Institut für Mikrobiologie.

In unseren vorhergehenden Arbeiten über die Wachstumsbedingungen für *B. radicicola* in Reinkultur wurde gezeigt, dass bei dem Wachstum ein Komplex von zusammenwirkenden Zuwachsfaktoren betätigt ist. (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938 a). Die Frage nach der Natur der hier beteiligten Wuchsstoffe wurde um einen Schritt vorwärts gebracht, als es gezeigt werden konnte, dass Vitamin B₁ auf *B. radicicola* wachstumsfördernd wirkt. (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938 b.) Das Wachstum, das durch Zugabe von Vitamin B₁ zu dem synthetischen Medium hervorgerufen wird, ist sehr geringfügig. Wird aber gleichzeitig mit Vitamin B₁ ein an sich fast inaktiver Ätherextrakt aus Hefe zugegeben, wird ein kräftiges Wachstum erhalten, das allerdings nicht dieselbe Höhe erreicht wie nach Zugabe von Hefeextrakt.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der chemischen Natur des in dem Ätherextrakt enthaltenen zuwachsfördernden Prinzips.

Bei den Aktivitätsprüfungen wurden die Wachstumsversuche in genau derselben Weise angeordnet, wie in unseren 1. und 2. Mitteilungen (l. c.) beschrieben worden ist. Als Nährlösung wurde also das synthetische Medium von ALLISON und HOOVER (1934) mit KNO₃ als N-Quelle und nach Ergänzung mit einer zweckmässigen Menge Vitamin B₁ benutzt. Wenn nicht anders besonders hervorgehoben wird, sind die Nähr-

•

lösungen und Aktivatorlösungen immer bei 120° während 1/2 Stunde sterilisiert worden. Die Proben wurden während der Versuchszeit im Dunkeln bei 24—26° aufbewahrt. Das Wachstum wurde durch direkte mikroskopische Zählung verfolgt. Von den immer ausgeführten Parallelproben wird das Mittel der gefundenen Werte ohne Berücksichtigung des eingehenden Fehlers zweistellig angegeben. Wenn nicht anders hervorgehoben wird, wurden die Proben mit dem in unseren früheren Arbeiten als Regel benutzten Stamm von *B. radicicola* (*Trif. pratense*) geimpft.

Nach unserer Auffassung dürfte es aber kaum möglich sein, mit dieser Versuchsmethodik ganz zuverlässige Absolutwerte zu erhalten, aus denen sich die Aktivität der geprüften Präparate exakt berechnen lässt. Wie schon in unserer 1. Mitteilung betont wurde, dürfte als Mass der vorhandenen Menge Zuwachsfaktors eher der Endwert des Auswuchses als die anfängliche Geschwindigkeit des Wachstums zu betrachten sein. Bei dem Wachstum kommt eine »Induktionsperiode« vor, deren Dauer erheblichen Schwankungen unterliegt. Die Natur dieser »Induktion« soll erst später (S. 322) erörtert werden.¹ Es ist aber schon von vornherein klar, dass das Vorhandensein einer variablen Induktionsperiode es unmöglich macht, bei den Wachstumsversuchen eine bestimmte Zeitdauer festzulegen, nach deren Ablauf die Bakterienzählungen ausgeführt werden sollen. Die einzige einwandfreie Methodik wäre hier selbstverständlich eine Aufnahme der vollständigen Wachstumskurve.

¹ Erst auf einem vorgeschrittenen Stadium dieser Untersuchung haben wir in das Wesen dieser Induktion einige Einsicht gewonnen. Erst bei dem Arbeiten in einem Medium, das nur die reinen Wuchsstoffe (Vitamin B₁ + Biotin) enthält, wurde uns klar, dass auch in einem Medium, das in Bezug auf die notwendigen Wuchsstoffe vollwertig ist, das Eintreten des Wachstums infolge der nicht behobenen Induktion ausserordentlich stark verzögert werden kann. Unsere Unkenntnis von dieser Tatsache hat die Bearbeitung des ersten Hauptabschnittes dieser Untersuchung beträchtlich erschwert. Die manchmal überraschende, wenigstens in quantitativer Hinsicht schlechte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wird aber im Lichte dieser neuen Erkenntnis durchaus verständlich.

Weil wir indessen ausschliesslich auf die direkte mikroskopische Zählung als Bestimmungsmethode angewiesen sind¹, war dies aus praktischen Gründen kaum ausführbar. Die Bakterienzählungen wurden deshalb in den verschiedenen Versuchsreihen zu einem Zeitpunkt ausgeführt, wo der Zuwachs nach unserer Auffassung beendet war. Es ist klar, dass unter diesen Versuchsbedingungen die erhaltenen Ergebnisse, sofern es sich um einen quantitativen Vergleich handelt, nur mit der äussersten Vorsicht beurteilt werden dürfen. Die Schlüsse, die in der Arbeit bezüglich der Natur des ätherlöslichen Zuwachsfaktors gezogen werden, sind aber in keiner Weise von der eben besprochenen Schwierigkeit bei der Aktivitätsbestimmung beeinflusst.

I. Isolierungsversuche an dem ätherlöslichen Zuwachsfaktor.

Bei unseren ersten Versuchen mit dem ätherlöslichen Zuwachsfaktor haben wir als Ausgangsmaterial frische Bäckerhefe benutzt (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938 b, S. 300). Bei den grösseren Darstellungen, die in der vorliegenden Arbeit notwendig wurden, war es zweckmässig ein Ausgangsmaterial zu verwenden, das schon von den leicht zu beseitigenden Ballaststoffen befreit worden war. Für unsere Zwecke erwies sich der käufliche eingedickte Hefeextrakt der Cenovis-Werke gut verwendbar. Er wurde deshalb zu sämtlichen Präparationen in dieser Arbeit benutzt².

Vorversuch.

300 g Cenovisextrakt wurden mit 1050 g wasserfreiem Na_2SO_4 innig vermischt. Die noch etwas zähe Masse wurde mit einem

¹ Die Unzuverlässigkeit von Trübungsbestimmungen als Mass der Bakterienzahl wurde in einer vorhergehenden Arbeit (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1939) dargelegt.

² Der »Cenovis«-Extrakt wurde von der A.-G. Cenexa, Stocksund bei Stockholm, zu ermässigtem Preis geliefert.

Messer fein gehackt und mit 3,5 l siedendem absolutem Alkohol (Rückflusskühler) fraktioniert extrahiert. ($2 \times 1,75$ l Alkohol während je 2 Stunden). Zwischen der 1. und 2. Extraktion wurde die nunmehr spröde Masse fein gepulvert. Nach den Extraktionen wurde der Rückstand abgesaugt und mit kaltem absolutem Alkohol (insgesamt 900 ml) ausgewaschen. Aus den vereinigten Alkoholextrakten wurde der Alkohol abdestilliert. Der teerartige Rückstand wurde noch in einer offenen Schale auf dem Wasserbade erwärmt, um den Alkohol vollständig zu entfernen und schliesslich im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Ausbeute 29 g.

Der Rückstand wurde mit 135 g wasserfreiem Na_2SO_4 und 135 g geschmolzenem KHSO_4 verrieben. Die so erhaltene homogene Mischung wurde mit 3 l trockenem peroxydfreiem Äther warm (Rückflusskühler) extrahiert (3×1 l Äther während je 2 Stunden). Die vereinigten Ätherextrakte wurden über Na_2SO_4 getrocknet und dann filtriert. Aus dem Filtrat wurde der Äther abdestilliert. Als Rückstand wurde ein stark braunrot gefärbter dicker Sirup (5,0 g) erhalten, aus dem sich beim Erkalten deutlich ausgebildete Kristalle ausschieden. Nach Abkühlen in NaCl-Eis-Mischung wurden die Kristalle (560 mg) mittels Zentrifugierung durch ein Glasfilter separiert.

Die Kristallfraktion wurde mit Wasser verrührt. Ein erheblicher Teil blieb dabei ungelöst (wahrscheinlich Fett, Rotfärbung mit Sudan III) und wurde durch Filtrieren beseitigt. Das Filtrat wurde bis zur Trockne eingedampft. Der wohl kristallisierte Rückstand (280 mg) reagierte stark sauer. Vor der Aktivitätsprüfung (Tab. 1) musste er deswegen neutralisiert werden (5 mg kristallisierte Substanz + 0,55 ml $n/10$ NaOH).

Die Aktivität der kristallisierten Substanz in Abwesenheit von Vitamin B_1 wurde in einer anderen Versuchsreihe geprüft. Es wurden diesmal keine mikroskopischen Zählungen ausgeführt. Die makroskopische Beobachtung der Proben ergab jedoch, dass die Substanz in Abwesenheit von Vitamin B_1 nur eine sehr geringfügige wachstumsfördernde Wirkung hat.

Tabelle 1.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Vegetationsdauer 11 Tage.

Kristallfraktion in γ	Vitamin B ₁ in γ	Millionen Bakterien
—	—	5
—	0,08	40
10	0,08	70
100	0,08	650
500	0,08	800

Hauptversuch.

Auf Grundlage des Vorversuchs wurde nun eine grössere Darstellung vorgenommen. Es erwies sich aber zweckmässig einige kleinere technische Abänderungen einzuführen. Bei der Alkoholextraktion wurde die Extraktionszeit etwas verlängert (auf etwa 8 Stunden). Nach angestellten Vorversuchen konnte die Ätherextraktion vorteilhaft bei Zimmertemperatur während etwa 12 Stunden und unter häufigem Umschütteln ausgeführt werden, weshalb dieses Verfahren statt der Extraktion mit siedendem Äther zur Verwendung kam. Die Darstellung gestaltete sich folgendermassen:

4 kg Cenovis-Extrakt wurden mit 14 kg wasserfreiem Na_2SO_4 vermischt und fraktioniert mit insgesamt 60 l absolutem Alkohol extrahiert. Die alkoholischen Filtrate wurden eingedampft. Der Rückstand betrug 660 g. Er wurde mit 3,3 kg wasserfreiem Na_2SO_4 + 3,3 kg geschmolzenem KHSO_4 verrieben und mit 35 l trockenem peroxydfreiem Äther in zwei Fraktionen extrahiert.¹ Die Ätherextrakte lieferten nach Abdestillieren des Äthers 90 g Rückstand.

¹ Durch einen besonderen Versuch wurde festgestellt, dass die Extraktion fast erschöpfend gewesen war.

Tabelle 2.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Vegetationsdauer 14 Tage.

Aktivatorpräparat	Vitamin B ₁ in γ	Millionen Bakterien
—	—	9
—	0,08	35
1,1 γ entfetteter Ätherextrakt	—	0 ¹
11 „ „ „	—	0 ¹
110 „ „ „	—	0 ¹
1,1 „ „ „	0,08	30
11 „ „ „	0,08	60
110 „ „ „	0,08	500
1,2 „ Kristallfraktion	—	0 ¹
12 „ „	—	0 ¹
120 „ „	—	0 ¹
1,2 „ „	0,08	0 ¹
12 „ „	0,08	55
120 „ „	0,08	310
1,2 „ Mutterlauge	—	0 ¹
12 „ „	—	0 ¹
120 „ „	—	0 ¹
1,2 „ „	0,08	40
12 „ „	0,08	90
120 „ „	0,08	570

28 g Trockensubstanz der ersten Ätherfraktion wurden mit so viel Wasser verrührt, dass das darin enthaltene Fett vollständig ausgeschieden wurde. Das Fett wurde durch Filtrieren beseitigt, das Filtrat eingedampft und schliesslich im evakuierten Exsiccator über CaCl_2 getrocknet. Nach Abkühlen in NaCl-Eis-Mischung wurde die ausgeschiedene Kristallmasse auf

¹ Wachstum makroskopisch beurteilt.

einem Glasfilter abgenutscht und mit trockenem, peroxydfreiem Äther ausgewaschen. Es wurden in dieser Weise 2,2 g kristallisierte Substanz erhalten. Das Gewicht der teerartigen Mutterlauge betrug 20 g.

Die kristallisierte Fraktion und die Mutterlauge sowie auch die ganze Ätherfraktion nach Abscheidung vom Fett aber vor Abtrennung der Kristalle wurden im Vegetationsversuch geprüft. (Tab. 2). Vor der Prüfung wurden die Substanzen mit NaOH gehörig neutralisiert.

Wie ersichtlich wirken sowohl die Kristallfraktion wie die Mutterlauge wachstumsfördernd. Es lässt sich keine Aussage darüber machen, ob die kristallisierte Substanz an sich als Wuchsstoff wirkt oder infolge einer anhaftenden, aktiven Verunreinigung. Ebenso lässt sich die Aktivität der Mutterlauge entweder dadurch erklären, dass sie in Bezug auf die kristallisierende Substanz gesättigt ist oder dadurch, dass sie einen unbekannten aktiven Stoff enthält.

Mit der zweiten Ätherfraktion wurde folgender Versuch angestellt. 62 g Trockensubstanz wurden in NaCl-Eis-Mischung abgekühlt und durch ein Glasfilter filtriert. Sowohl die dabei erhaltene Kristallfraktion wie die Mutterlauge wurden durch Auflösen in Wasser und Filtrieren von Fett befreit. Es wurden in dieser Weise 4,4 g kristallisierte Substanz und 57 g Mutterlauge erhalten. Die Aktivität von sowohl Kristallfraktion als Mutterlauge wurde in neutralisierten Proben in üblicher Weise bestimmt. (Tab. 3).

Tabelle 3 zeigt grundsätzlich dasselbe wie Tabelle 2, nämlich, dass sich das aktive Prinzip auf Kristallfraktion und Mutterlauge verteilt. Auffallend ist die verhältnismässig erhebliche Wachstumsförderung, die mit den niedrigen Aktivator Mengen erreicht wird. Der Versuch zeigt, dass die quantitative Bestimmung des aktiven Prinzips im Vegetationsversuch noch einer sicheren methodischen Grundlage entbehrt. Auf diese Frage werden wir später (S. 314 u. 322) zurückkommen.

Um entscheiden zu können, ob die erhaltene kristallisierte

Tabelle 3.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Vegetationsdauer 13 Tage.

Aktivatorpräparat	Vitamin B ₁ in γ	Millionen Bakterien
—	—	9
1,1 γ Kristallfraktion	0,08	240
11 „ „	0,08	300
110 „ „	0,08	850
270 „ „	0,08	1000
1,0 „ Mutterlauge	0,08	220
10 „ „	0,08	250
100 „ „	0,08	740
280 „ „	0,08	1000

Substanz an sich als Wuchsstoff wirkt war es notwendig, sie von der anhaftenden Mutterlauge vollständig zu befreien.

Die aus der ersten Ätherfraktion erhaltene Kristallmenge (2,2 g, vgl. S. 307. Prüfung in Tab. 2, S. 306), wurde 3-mal aus Methylalkohol umkristallisiert. Die Kristalle wurden nach jeder Umkristallisation mit Acetonitril, und dann mit Äther gewaschen. Ausbeute 450 mg. In einer bei 100° während 2 Stunden getrockneten Probe wurde der Schmelzpunkt ermittelt. 179°—181°,5 (unkorr.). Die Substanz wird in der folgenden Darstellung als Präparat I bezeichnet.

Bei der Aktivitätsprüfung der mit NaOH neutralisierten Substanz wurden auch Kombinationsversuche mit der Mutterlauge von der Rohkristallfraktion angestellt. Dies geschah deswegen, weil die Möglichkeit besteht, dass die Zuwachsförderung durch ein Zusammenwirken von der kristallisierten Substanz und irgend einem in der Mutterlauge vorfindlichen Stoff zustande kommt. (Tab. 4.)

Das wesentliche Ergebnis der Tabelle 4 ist, dass die Substanz auch nach 3-maligem Umkristallisieren wachstumsför-

Tabelle 4.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Vegetationsdauer 14 Tage.

Präparat I in γ	Mutterlauge in γ	Vitamin B ₁ in γ	Millionen Bakterien
—	—	—	7
—	—	0,08	45
1,0	—	0,08	40
10	—	0,08	120
100	—	0,08	250
250	—	0,08	590
—	12	0,08	90
1,0	12	0,08	70
10	12	0,08	210
100	12	0,08	560
250	12	0,08	920

dernde Eigenschaften besitzt. Wie schon mehrmals betont wurde, lässt sich auf Grund der Vegetationsversuche eine quantitative Berechnung der Aktivität nicht ausführen. Immerhin gibt ein Vergleich mit den mit dem Rohpräparat erhaltenen Ergebnissen (Tabelle 2, S. 306) nicht zu der Auffassung Anlass, dass die Substanz durch die mehrmals wiederholte Umkristallisation an Aktivität verloren hat. Der Schmelzpunkt zeigt an, dass wir mit einer einheitlichen Substanz zu tun haben, die keine erheblichen Mengen Verunreinigungen enthält.

Die erwähnten Ergebnisse sprechen also für die Auffassung, dass der kristallisierten Substanz an sich zuwachsfördernde Eigenschaften zukommt. Gegen diese Auffassung spricht aber die Tatsache, dass eine sehr beträchtliche Menge der Substanz erforderlich ist, um eine nennenswerte Zuwachsförderung zu bewirken. In der Tat besitzt schon ein alkoholischer Hefeextrakt eine grössere Aktivität als die hier vorliegende kristallisierende Substanz. (Vgl. z. B. NILSSON, BJÄLFVE & BUR-

STRÖM 1938 a.) Auch die Aktivität der Mutterlauge, die eher grösser ist als die der Kristalle, spricht dafür, dass die Aktivität der Kristalle durch eine eingemischte aktive Verunreinigung bedingt ist. Die oben erwähnte Möglichkeit, dass die Aktivierung durch Zusammenwirkung mehrerer Faktoren zustande kommt, wird von den Ergebnissen der Tabelle 4 kaum gestützt.

Angenommen, dass die Aktivität der kristallisierten Substanz von einer beigemischten Verunreinigung herrührt, dürfte man vermuten können, dass diese Verunreinigung eine beträchtliche Wirkungsintensität besitzt.

Identifizierung der ätherlöslichen, kristallisierenden Substanz.

Um bei der Frage über die Aktivität der kristallisierten Substanz zu einer völligen Entscheidung zu kommen, musste die Substanz chemisch identifiziert werden. Wie z. B. an dem Präparat I (vgl. S. 308) festgestellt wurde, besitzt sie stark saure Eigenschaften. Der Schmelzpunkt (179° — $181^{\circ},5$) deutet die Möglichkeit an, dass sie mit Bernsteinsäure identisch ist.

Die S. 307 erhaltene Kristallfraktion aus der zweiten Ätherextraktion wurde bis zu konstantem Schmelzpunkt umkristallisiert. 3.8 g wurden zunächst fein gepulvert und mit Acetonitril ausgewaschen. Die Substanz wurde dann zweimal aus Methylalkohol umkristallisiert. Die abgenutzte Kristallmasse wurde jedesmal mit Acetonitril und dann mit Äther gewaschen. Die nach der zweiten Umkristallisation erhaltene Substanz (900 mg) wurde schliesslich aus Methylalkohol-Äther umkristallisiert. Die Kristalle wurden mit Äther gewaschen und auf dem Wasserbade getrocknet. Ausbeute 360 mg. Diese Substanz wird im folgenden als Präparat II bezeichnet.

Die Mutterlauge wurde zur Trockne eingedampft. Ausbeute 550 mg. Sie wird im folgenden als »Mutterlauge von Präparat II« bezeichnet.

Von den Substanzen wurden teils direkte Schmelzpunkts-

bestimmungen teils Mischschmelzproben nach Vermischung mit der gleichen Menge Bernsteinsäure¹ ausgeführt. Vor den Schmelzpunktsbestimmungen wurden die Substanzen bei 70° bis zu Gewichtskonstanz getrocknet. Die Bestimmungen werden unkorrigiert angegeben, weil die gleichzeitig und in derselben Weise ausgeführte Schmelzpunktsbestimmung der reinen Bernsteinsäure als Referenz dient.²

Tabelle 5.

Substanz	Schmelzpunkt	Mischschmelzpunkt mit Bernsteinsäure
Bernsteinsäure	182°—183°	
Präparat II	180°—182°	181°—182°
Mutterlauge von Präparat II	180°—181°.5	181°.5—182°

Die Elementaranalyse² der Substanzen ergab:

Einwage	mg CO ₂	mg H ₂ O	mg Rest	% C	% H
4,955 mg Präparat II . . .	7,875	2,170	0,004	40,63	4,91
4,987 mg Mutterlauge von Präparat II	7,515	2,230	0,004	41,19	5,01

Berechnet für C₄H₆O₄ 40,66 % C, 5,12 % H.

Die N-Bestimmung und die P-Bestimmung in Präparat II waren negativ. Dagegen lieferten bei der S-Bestimmung 12,488 mg Präparat II 0,180 mg BaSO₄, was 0,20 % S entspricht.

Nach den Schmelzpunktsbestimmungen und den Elementaranalysen kann nicht daran gezweifelt werden, dass Präparat II mit Bernsteinsäure identisch ist.

¹ Bernsteinsäure f. anal. Zwecke, Schering-Kahlbaum.

² Die Analysen wurden von Herrn Dr. Ing. A. Schoeller, Berlin ausgeführt.

Abtrennung der Bernsteinsäure von der aktiven Verunreinigung.

Da es nunmehr als sichergestellt betrachtet werden konnte, dass die von uns isolierte kristallisierte Substanz aus Bernsteinsäure besteht, wurde die Aktivität von reiner Bernsteinsäure in Kombination mit Vitamin B₁ geprüft. Das Wachstum wurde in diesen Versuchen nur makroskopisch beurteilt, und die Versuche werden hier deswegen nicht ausführlich besprochen. Sie lieferten indessen keinen Anhalt dafür, dass Bernsteinsäure in diesem System wachstumsfördernde Eigenschaften besitzt. (Vgl. hierzu auch Tab. 7, S. 315). Die Aktivität der von uns gewonnenen Kristallfraktionen muss deswegen einer hartnäckig anhaftenden Verunreinigung zugeschrieben werden.

Der Umstand, dass sich die Bernsteinsäure im Vakuum sublimieren lässt, wurde ihrer Abtrennung von der in unseren Präparaten beigemischten, aktiven Verunreinigung zugrunde gelegt.

101 mg Rohkristalle (Prüfung Tab. 3, S. 308) wurden aus einer Mikoretorte im Schwefelsäurebad bei 145°–170° und etwa 0,01 mm Hg (Leybold-Ölpumpe) sublimiert. Die Bernsteinsäure sublimierte in schönen Nadelchen über. Ausbeute 99 mg. Schmelzpunkt 180°–182°.

Im Hauptversuch wurden 489 mg Rohkristalle (Prüfung Tab. 3, S. 308) während 1 Stunde bei 150° sublimiert. Beim Zerschneiden der Retorte wurde etwas von der sublimierten Substanz verspritzt. Die Ausbeute betrug deswegen nur 466 mg. Die Substanz wird im folgenden als Präparat III bezeichnet.

Das Präparat III stellt, wie folgende Bestimmungen zeigen, Bernsteinsäure in analysenreiner Form dar. Schmelzpunkt 180°,5–182°,5. Mischschmelzpunkt mit Bernsteinsäure 181°,5–182°. 5,381 mg gaben bei der Elementaranalyse 8,035 mg CO₂, 2,430 mg H₂O, 0,008 mg Rest. Hieraus berechnet sich 40,80 % C und 5,06 % H. Mit 0,1056 n NaOH titriert (Phenolphthalein)

verbrauchen 50,0 mg 7,95 ml. 50,0 mg reine Bernsteinsäure verbrauchen 7,94 ml. (Theoretisch 8,02 ml.)

Bei der Sublimierung blieb an der Wand der Retorte ein dünner Hauch zurück. Dieser konnte nicht in absolutem Alkohol gelöst werden. Er wurde mit Wasser (49 ml) ausgelaugt. Die filtrierte, fast neutrale Lösung hatte einen Trockengewicht (105° – 110°) von 0,066 mg pro ml und einen Glührückstand von 0,015 mg pro ml. Organische Substanz somit 0,051 mg pro ml. Im folgenden wird diese Fraktion als Präparat IV bezeichnet.

Die sublimierte Bernsteinsäure (Präparat III) erwies sich im Vegetationsversuch als inaktiv. Der Rückstand von der Sublimation (Präparat IV) dagegen ruft in Gegenwart von Vitamin B₁ ein Bakterienwachstum hervor, das von derselben Grösse ist wie nach Zugabe von Hefeextrakt. Allerdings setzt das Wachstum erst nach einer ausgedehnten Induktionsperiode (etwa 1 Woche) ein. (Vgl. S. 314 u. S. 322.) (Tab. 6.)

Tabelle 6.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Vegetationsdauer 27 Tage.

Präparat IV in γ	Vitamin B ₁ in γ	Millionen Bakterien
—	0,09.	45
1,25	—	13
0,005	0,09	47
0,05	0,09	100
0,5	0,09	550
1,25	0,09	1100
5	0,09	1400

Zum Schluss dieses Abschnittes soll noch eine grosse Versuchsreihe mitgeteilt werden, in welcher gleichzeitig folgende Präparate geprüft wurden: Präparat I, Präparat II, Mutter-

lauge von Präparat II, Rohkristalle (Tab. 3, S. 308), Präparat III (Sublimat), Präparat IV (Rückstand) und schliesslich Präparat III + Präparat IV.

In diesen Vegetationsversuchen ist eine beträchtliche Induktion des Wachstums vorhanden. In der Tabelle wird für die verschiedenen Proben der Zeitpunkt angegeben, wo die Induktionsperiode wahrscheinlich beendet ist.¹ In dieser Versuchsreihe werden die einzelnen Parallelproben, nicht nur die Mittelwerte, angegeben. Dies geschieht deswegen, weil in dieser Versuchsreihe infolge der beträchtlichen Induktionsperiode die Übereinstimmung zwischen den Parallelproben manchmal nicht befriedigend ist. Der Einfluss der Induktion tritt in diesem Versuch besonders klar hervor. Es verdient bemerkt zu werden, dass die in dieser Versuchsreihe benutzte Radicicolakultur fast $\frac{1}{2}$ Jahr in Rohrzucker-Strohextrakt-Nährlösung² ohne Überimpfung aufbewahrt worden war.³ (Tab. 7.)

Durch die in Tab. 7 wiedergegebene Versuchsreihe werden die in der Arbeit schon früher mitgeteilten Ergebnisse bestätigt. Diese Ergebnisse können folgendermassen zusammengefasst werden. Die durch Ätherextraktion von Hefe gewonnene kristallisierte Substanz besitzt auch nach Umkristallisieren bis zu konstantem Schmelzpunkt wachstumsfördernde Eigenschaften. Bei Hochvakuumsublimation der kristallisierten Substanz wird ein völlig inaktives Sublimat (Bernsteinsäure) erhalten. Der nach der Sublimation erhaltene Rückstand wirkt dagegen in Kombination mit Vitamin B₁ stark wachstumsfördernd. Eine deutlich verstärkte Wirkung durch Zugabe von dem Sublimat konnte nicht nachgewiesen werden. In sämtlichen Ansätzen macht sich eine erhebliche Induktion des Wachstums

¹ Es wird der Zeitpunkt angegeben, wo die Trübung der betreffenden Probe deutlich stärker erscheint als die Trübung der Kontrollproben mit Vitamin B₁.

² Über die Zusammensetzung dieser Nährlösung siehe BJÄLFVE & NILSSON 1938.

³ Dieselbe Kultur kommt in einer Anzahl anderer Versuche zur Verwendung (vgl. Tab. 8, 10, 11 und 12).

Tabelle 7.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Vegetationsdauer 21 Tage.

Aktivatorpräparat				Vitamin B ₁ in γ	Induktions- periode be- endet nach Tagen	Millionen Bakterien
				---		6
				---		8
				0,07		40
				0,07		45
210	γ	Präparat I	.	---		10
240	"	"	"	---		4
0,96	"	"	"	0,07	8	65
0,96	"	"	"	0,07	8	65
9,6	"	"	"	0,07	16	80
9,6	"	"	"	0,07	14	85
96	"	"	"	0,07	16	520
96	"	"	"	0,07	14	580
240	"	"	"	0,07	19	80
240	"	"	"	0,07	17	580
240	"	"	11	---		15
240	"	"	"	---		10
0,96	"	"	"	0,07	8	60
0,96	"	"	"	0,07		35
9,6	"	"	"	0,07	9	100
9,6	"	"	"	0,07	18	90
96	"	"	"	0,07	15	310
96	"	"	"	0,07	12	350
240	"	"	"	0,07	19	270
250	"	Mutterlauge von Präparat II		---		6
250	"	"	"	---		8
1	"	"	"	0,07	11	45
1	"	"	"	0,07	11	60
10	"	"	"	0,07	14	50

(Tabelle 7. Forts.)

Aktivatorpräparat	Vitamin B ₁ in γ	Induktions- periode been- det nach (Tagen)	Millionen Bakterien
10 γ Mutterlauge von Präparat II	0,07	11	50
100 „ „ „ „ „	0,07	14	110
100 „ „ „ „ „	0,07	14	110
250 „ „ „ „ „	0,07		80
250 „ „ „ „ „	0,07	15	200
240 „ Rohkristalle (Tab. 3, S. 308) .	—		8
240 „ „ „ „ „ „ .	—		8
0,96 „ „ „ „ „ „ .	0,07	16	80
0,96 „ „ „ „ „ „ .	0,07	14	90
9,6 „ „ „ „ „ „ .	0,07	13	150
9,6 „ „ „ „ „ „ .	0,07	13	110
96 „ „ „ „ „ „ .	0,07	8	830
96 „ „ „ „ „ „ .	0,07	8	850
240 „ „ „ „ „ „ .	0,07	6	1100
240 „ „ „ „ „ „ .	0,07	6	1300
250 „ Präparat III (Sublimat) . .	—		6
250 „ „ „ „ „ „ .	—		6
1 „ „ „ „ „ „ .	0,07		40
1 „ „ „ „ „ „ .	0,07		40
10 „ „ „ „ „ „ .	0,07		55
10 „ „ „ „ „ „ .	0,07		50
100 „ „ „ „ „ „ .	0,07		30
100 „ „ „ „ „ „ .	0,07		55
250 „ „ „ „ „ „ .	0,07		55
1,25 „ Präparat IV (Rückstand) . .	—		10
1,25 „ „ „ „ „ „ .	—		10
0,005 „ „ „ „ „ „ .	0,07		40
0,005 „ „ „ „ „ „ .	0,07		45
0,05 „ „ „ „ „ „ .	0,07	8	95
0,05 „ „ „ „ „ „ .	0,07	8	110

(Tabelle 7. Forts.)

Aktivatorpräparat	Vitamin B ₁ in γ	Induktions- periode be- endet nach (Tagen)	Millionen Bakterien
0,5 γ Präparat IV (Rückstand) . .	0,07	8	420
0,5 " " " " . .	0,07	8	290
1,25 " " " " . .	0,07	8	760
1,25 " " " " . .	0,07	8	700
5 " " " " . .	0,07	7	1200
5 " " " " . .	0,07	8	1100
250 " Präp. III + 0,5 γ Präp. IV . .	—		6
250 " " " " " " . .	—		10
1 " " " " " " . .	0,07	9	470
1 " " " " " " . .	0,07	14	460
10 " " " " " " . .	0,07	14	370
10 " " " " " " . .	0,07	16	450
100 " " " " " " . .	0,07	12	490
100 " " " " " " . .	0,07	13	500
250 " " " " " " . .	0,07	16	340
250 " " " " " " . .	0,07		4

bemerkbar. In den Ansätzen mit nicht gereinigter Substanz (Rohkristalle) sowie mit Rückstand von der Sublimation setzt das Wachstum früher ein als in den sonstigen Proben.

II. Biotin als Zuwachsfaktor für *Bact. radicleicola*.

Das Verhalten des ätherlöslichen zuwachsfördernden Prinzips (Wirkungsintensität, Stabilität) liess den Verdacht entstehen, dass die aktive Substanz mit dem Kögl'schen Biotin identisch ist.

Dank dem lebenswürdigen Entgegenkommen des Vorstands des Botanischen Instituts zu Uppsala Herrn Prof. Dr. E. Melin wurde uns die Möglichkeit geboten, in seinem Laborato-

rium Versuchsansätze mit einem reinen Biotinpräparat (Biotinmethylester) zu bereiten, das Herrn Professor Melin von Herrn Professor Kögl zu Verfügung gestellt worden war.

Wie jetzt schon festgestellt werden mag, zeigen unsere Versuche eindeutig, dass Biotin als Zuwachsfaktor für *B. radicola* funktioniert. Bei den Vegetationsversuchen wird indessen die zuwachsfördernde Eigenschaft des Biotins häufig durch die schon mehrmals erwähnte Induktionsperiode verdeckt, die sich in Ansätzen, die nur die reinen Wuchsstoffe enthalten, besonders stark geltend macht. Die Vegetationsdauer muss deshalb in diesen Versuchen unter Umständen beträchtlich ausgedehnt werden.

Mit Bezug auf das Bedürfnis von Vitamin B₁ besteht eine Differenzierung zwischen verschiedenen Stämmen von *B. radicola*. Bei Kombinationsversuchen mit Vitamin B₁ und Ätherextrakt aus Hefe haben wir früher festgestellt, dass bei gewissen Stämmen von *B. radicola* der ätherlösliche Zuwachsfaktor allein für das Wachstum genügt, während andere eine gleichzeitige Zugabe von Vitamin B₁ erfordern. (BJÄLFVE, NILSSON & BURSTRÖM 1938, 1939). Biotin als Zuwachsfaktor wurde deswegen an drei verschiedenen Stämmen von *B. radicola* studiert von denen einer dem erstgenannten und zwei dem letztgenannten Typus angehören. Sämtliche Stämme gehören zu der Kleegruppe. Sie werden im folgenden als *B. radicola* 1, *B. radicola* 2 und *B. radicola* 3 bezeichnet. Die zwei erstgenannten wachsen nur nach gleichzeitiger Zugabe von Ätherextrakt und Vitamin B₁, der letztgenannte erfordert für das Wachstum nur Ätherextrakt. *B. radicola* 1 ist mit dem im Vorhergehenden und in unseren Arbeiten bisher als Regel benutzten Stamm identisch.

Die Funktion des Biotins als Zuwachsfaktor geht aus der Tab. 8 hervor. Sowohl Biotinlösung als Vitamin B₁-Lösung waren durch konsekutives Erhitzen in strömendem Wasserdampf sterilisiert worden.

Es war in dieser Versuchsreihe eine ausgeprägte Induktion des Wachstums vorhanden. Der fördernde Einfluss von Vita-

Tabelle 8.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Unter »Bakterienzahl« wird Millionen Bakterien pro ml verstanden.

Bakterienstamm	Biotin in m γ	Vitamin B ₁ in γ	Bakterien- zahl nach 21 Tagen	Bakterien- zahl nach 26 Tagen
<i>B. radicleola</i> 1	—	—	5	6
»	—	0,07	60	
»	0,1	—	6	9
»	0,5	—	7	6
»	0,1	0,07	690	
»	0,5	0,07	1500	
<i>B. radicleola</i> 2	—	—	6	7
»	—	0,07	70	
»	0,1	—	10	9
»	0,5	—	5	6
»	0,1	0,07	700	
»	0,5	0,07	1300	
<i>B. radicleola</i> 3	—	—	7	6
»	—	0,07	80	
»	0,1	—	370	530
»	0,5	—	930	950
»	0,1	0,07	760	
»	0,5	0,07	1500	

min B₁ machte sich nach 4 Tagen bemerkbar. Eine Wirkung des Biotins konnte erst nach 9—10 Tagen beobachtet werden und auch dann nur in den Proben mit gleichzeitigem Zusatz von Vitamin B₁. Bei *B. radicleola* 3 konnte die Wachstumsförderung durch Biotin als alleinigen Wachsstoff erst nach 13 Tagen beobachtet werden.

Aus Tab. 8 geht mit aller Deutlichkeit hervor, dass Biotin schon in einer ausserordentlich grossen Verdünnung auf *B. radicleola* zuwachs-fördernd wirkt. Mit Bezug auf das gleich-

zeitige Bedürfnis von Vitamin B₁ scheint dieselbe Spezialisierung vorzuliegen wie diejenige, die in Kombinationsversuchen mit Vitamin B₁ und Ätherextrakt aus Hefe zum Vorschein kommt. Die Identität des ätherlöslichen zuwachsfördernden Prinzips mit Biotin gewinnt hierdurch eine Stütze.

Das von den reinen Wuchsstoffen hervorgerufene Wachstum erreicht etwa dieselbe Grösse wie das Wachstum, das in Ansätzen mit Hefeextrakt erhalten wird. Die Wirkung des Hefeextrakts wird dennoch nicht restlos durch die Wirkung der reinen Wuchsstoffe gedeckt. Wie wir gesehen haben, besteht eine ausgesprochene Verschiedenheit darin, dass durch Hefeextrakt das Wachstum schon nach kurzer Zeit herausgelöst wird, während die zuwachsördernde Eigenschaft der reinen Wuchsstoffe (unter Umständen) erst nach einer ausgedehnten

Tabelle 9.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Biotinlösung durch konsekutives Erhitzen in strömendem Wasserdampf, Vitamin B₁-Lösung durch Autoklavieren bei 120° sterilisiert. Vegetationsdauer 18 Tage.

Biotin in m γ	Vitamin B ₁ in γ	Millionen Bakterien
—	—	6
—	0,08	80
0,01	—	14
0,05	—	14
0,1	—	12
0,5	—	16
1,0	—	16
0,01	0,08	220
0,05	0,08	730
0,1	0,08	930
0,5	0,08	1600
1,0	0,08	1500

Vorperiode in Erscheinung tritt. Diese Induktionsperiode soll später (S. 322 u. 327) eingehender behandelt werden.

Die Aktivität des Biotins als Zuwachsfaktor wird in folgendem Versuch, der mit *B. radicicola* 1 ausgeführt wurde, weiter beleuchtet. (Tab. 9.)

Wie ersichtlich ist eine deutlich zuwachs-fördernde Wirkung des Biotins schon bei einer Zugabe von 0,01 m γ d. h. bei der Verdünnung 1:100.000.000.000 zu verzeichnen. Die maximale Wirkung wird bei etwa 0,5 m γ pro ml Medium erreicht.

In folgendem, mit *B. radicicola* 1, ausgeführten Versuch wurde die Aktivierung mit Biotin und mit dem S. 313 beschriebenen Präparat IV vergleichend studiert. In dieser Versuchsreihe wurde auch wegen der wackelnden Angaben der Literatur über die Thermostabilität von Vitamin B₁ der Einfluss der Sterilisation auf die Aktivität des Vitamins untersucht. Die Sterilisation wurde teils durch konsekutives Erhitzen in strömendem Wasserdampf (3×10 Minuten) und teils durch Autoklavieren bei 120° während 30 Minuten vorgenommen. (Tab. 10).

Tabelle 10.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Biotinlösung durch konsekutives Erhitzen in strömendem Wasserdampf sterilisiert. Vegetationsdauer 21 Tage.

Vitamin B ₁ in γ	Biotin in m γ	Präparat IV in γ	Millionen Bakterien
—	—	—	9
Vitamin B ₁ konsekutiv sterilisiert	0,07	—	75
	0,07	0,5	1400
	0,07	2,5	920
Vitamin B ₁ bei 120° sterilisiert	0,07	—	65
	0,07	0,5	1500
	0,07	2,5	1000

Präparat IV verhält sich im Vegetationsversuch im Prinzip wie Biotin, obgleich die Aktivität selbstverständlich ungleich kleiner ist.

Die Art der Sterilisierung hat auf die Aktivität von Vitamin B₁ keinen Einfluss gehabt. Von methodischer Wichtigkeit ist, dass durch die in der Arbeit übliche Sterilisierung bei 120° somit eine Zerstörung von Vitamin B₁ nicht in einem derartigen Umfang stattgefunden hat, dass dadurch die Aktivitätsbestimmung von Biotin bzw. dem ätherlöslichen Zuwachsfaktor beeinträchtigt wird. Hierzu ist noch zu bemerken, dass nach unseren früheren Untersuchungen (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938 b) in unseren Versuchsansätzen Vitamin B₁ wohl in einem erheblichen Überschuss vorliegt.

Orientierende Versuche haben kein Anzeichen dafür gegeben, dass in Kombinationsversuchen sich Biotin und der ätherlösliche Zuwachsfaktor gegenseitig beeinflussen.

III. Die Induktionsperiode bei dem Wachstum.

Bezüglich der mehrmals erwähnten Induktionsperiode bei dem Wachstum sind während der Arbeit einige Beobachtungen gemacht worden, die zur Aufklärung der hier vorliegenden Verhältnisse einen Beitrag liefern.

Es war zunächst auffallend, dass besonders in Ansätzen mit reinen Wuchsstoffen die Induktionsperiode sehr ausgeprägt zum Vorschein kommt. Wenn wir unter dem Begriff Zuwachsfaktor einen Stoff verstehen, der für das Wachstum unbedingt erforderlich ist, kann es nicht behauptet werden, dass die Wachstumsinduktion dadurch bedingt ist, dass im System irgend einer von den wesentlichen Zuwachsfaktoren fehlt. Nachdem die Induktion behoben ist, entwickelt sich ja ein ganz normales Wachstum, das auch in quantitativer Hinsicht mit der in nativen Extrakten erreichten Vegetation durchaus vergleichbar ist. Die Verhältnisse erinnern vielmehr an die von der alkoholischen Gärung her bekannte Induktion, die in einem System auftritt, das in Bezug auf sowohl Enzyme als Aktiva-

toren vollständig ist. In diesem letzteren System genügt es ja häufig eine Spur Acetaldehyd zuzugeben, um die Induktion zu beheben. (NILSSON & ALM 1936; NILSSON 1937.)

Dass die Induktionsperiode als eine freistehende Erscheinung aufzufassen ist, die wahrscheinlich zu den während der eigentlichen Vegetationsperiode tätigen Wuchsstoffen keine direkte Beziehung hat, zeigt folgender Versuch, der mit einem alkoholischen Hefeextrakt ausgeführt wurde. Der Versuch wurde derart angeordnet, dass er mit den in Tab. 7 (S. 315) und Tab. 8 (S. 319) beschriebenen Versuchen völlig vergleichbar ist. Die benutzte Kultur var *B. radicleola* 1 (Tab. 11).

Tabelle 11.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Unter Bakterienzahl wird Millionen Bakterien pro ml verstanden.

Hefeextrakt in γ	Induktionsperiode beendet nach (Tagen)	Bakterienzahl nach 5 Tagen	Bakterienzahl nach 21 Tagen
—		•	8
50	2 - 3	• 180	820
500	2—3	560	1600

Ein Vergleich mit Tab. 7 und Tab. 8 zeigt, dass durch den nicht gereinigten Hefeextrakt das Wachstum weitaus rascher ausgelöst wird als durch die reinen bzw. gereinigten Wuchsstoffe. Dies liegt nicht etwa daran, dass mit dem Hefeextrakt eine verhältnismässig grössere Menge Wuchsstoffe zugeführt wird, denn wie der Versuch ebenfalls zeigt, werden (in den Ansätzen mit 50 γ Hefeextrakt) niedrigere Endwerte erreicht als in den Versuchen mit reinen Wuchsstoffen.

Das von uns benutzte, synthetische Medium von ALLISON und HOOVER (1934) enthält als Stickstoffquelle KNO_3 . Es besteht eine Möglichkeit, dass die induktionsaufhebende Wirkung des Hefeextrakts dadurch bedingt ist, dass dieser Extrakt Stickstoffverbindungen enthält, die von den Bakterien leichter aus-

genutzt werden als KNO_3 . In einer vorhergehenden Arbeit haben wir beobachtet, dass der Asparaginstickstoff von *B. radicola* etwas leichter assimiliert wird als der KNO_3 -Stickstoff. (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM, 1938 a, S. 301). Folgender Versuch zeigt, dass wenn Asparagin statt KNO_3 als Stickstoffquelle benutzt wird¹, das Wachstum etwa ebenso rasch von den reinen Wuchsstoffen ausgelöst wird wie sonst von einem unreinen Hefeextrakt. Der Versuch wurde mit *B. radicola* 1 ausgeführt und ist mit der vorhergehenden Versuchsreihe (Tab. 11) direkt vergleichbar. Weil es nicht völlig ausgeschlossen erscheint, dass bei dem Wachstum, ähnlich wie bei der Gärung, eine in der Kohlenhydratumsatzung begründete Induktion vorliegt, wurde in dieser Versuchsreihe auch der Einfluss von Acetaldehyd studiert. (Tab. 12.)

Durch den Versuch erhält die Vermutung eine Stütze, dass die induktionsaufhebende Wirkung des Hefeextrakts auf dessen

Tabelle 12.

Die Angaben beziehen sich auf 1 ml Medium. Unter Bakterienzahl wird Millionen Bakterien pro ml verstanden.

Stickstoff- quelle	0,07 γ Vitamin B_1 + 0,5 m γ Biotin	Acetalde- dehyd in γ	Induktions- periode beendet nach (Tagen)	Bakterien- zahl nach 7 Tagen	Bakterien- zahl nach 21 Tagen
KNO_3	+	—	6	170	1200
"	+	60	6—7	130	1000
"	+	600		2	4
"	—	600		1	4
Asparagin	+	—	3	750	1600
"	+	60	4	390	920
"	+	600		2	3
"	—	600		2	5

¹ Über die Zusammensetzung der Nährlösungen vgl. NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938 a, S. 298, wo auch gezeigt wird, dass in dem Asparagin-medium ohne Zugabe von Zuwachsfaktoren kein Wachstum erfolgt.

Gehalt an leicht verwertbaren Stickstoffverbindungen zurückzuführen ist. Eine Induktionsverkürzung durch Acetaldehyd konnte in diesem System nicht beobachtet werden. Im Gegenteil ruft Zugabe von Acetaldehyd eine deutliche Verlängerung der Induktionsperiode hervor.

Diskussion und Zusammenfassung.

In unseren früheren Arbeiten (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938 b; BJÄLFVE, NILSSON & BURSTRÖM 1938, 1939) konnte innerhalb der Kleegruppe von *B. radicola* für gewisse Stämme festgestellt werden, dass Vitamin B₁ als Wachstumsfaktor funktioniert. Ausser Vitamin B₁ ist für das Wachstum ein weiteres Prinzip erforderlich, das durch saure Ätherextraktion aus Hefe erhalten werden kann. In dem gewöhnlichen synthetischen Medium wird durch die kombinierte Wirkung von diesem Ätherextrakt und Vitamin B₁ eine Zuwachsförderung erreicht, die der Höhe nach mit der Zuwachsförderung durch native Extrakte einigermaßen vergleichbar ist. Aus dem sauren Ätherextrakt konnte schliesslich in kleinen Mengen eine wohl kristallisierte Substanz erhalten werden, die offenbar noch das aktive Prinzip des Ätherextrakts enthielt (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1939).

In der vorliegenden Arbeit haben wir in einer grösseren Darstellung so viel von der ätherlöslichen Substanz gewonnen, dass daraus durch mehrmaliges Umkristallisieren bis zu konstantem Schmelzpunkt ein analysenreines Produkt erhalten werden konnte. Durch Elementaranalyse und Mischschmelzprobe wurde festgestellt, dass die Substanz aus Bernsteinsäure bestand.

Die in dieser Weise aus Hefe gewonnene Bernsteinsäure verhielt sich im Kombinationsversuch mit Vitamin B₁ etwa wie der nicht gereinigte Ätherextrakt. Ein Bernsteinsäurepräparat von Schering-Kahlbaum für analytische Zwecke erwies sich dagegen als inaktiv. Es war demnach wohl anzunehmen, dass die Aktivität der von uns aus Hefe erhaltenen Bernsteinsäure einer

den Kristallen als Verunreinigung hartnäckig anhaftenden, hochaktiven Substanz zugeschrieben werden musste. Das aus Hefegewonnene Präparat wurde deshalb der Hochvakuumsublimation unterworfen, wobei es fast quantitativ sublimierte. Die durch Sublimation gereinigte Substanz erwies sich im Kombinationsversuch mit Vitamin B₁ als inaktiv. Der winzige Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, wobei er nur zum Teil in Lösung ging. Das Filtrat zeigte sich in Kombination mit Vitamin B₁ als stark wachstumsfördernd. Durch 0,05 γ pro ml Medium wurde schon eine deutliche Zuwachsförderung erreicht und durch 5 γ wurde ein Bakterienwachstum hervorgerufen, das mit dem nach Zugabe von nativen Extrakten erhaltenen Wachstum der Grösse nach vergleichbar ist (etwa 1400 Millionen Bakterien pro ml).

Nach den gemachten Erfahrungen dürfte es sich also hier wohl um eine Substanz handeln, die eine beträchtliche biologische Aktivität besitzt. Aus diesem und anderweitigen Gründen (Stabilität, Vorkommen) wurde jetzt die Möglichkeit in Erwägung gezogen, dass die hier wirkende Substanz mit dem Kögl'schen Biotin identisch ist. Es wurde deshalb der Einfluss von Biotin auf das Wachstum von *B. radiculicola* studiert. (Vgl. S. 317.)

Unsere Versuche zeigen eindeutig, dass Biotin als Wachstumsfaktor für *B. radiculicola* wirkt. Schon bei einer Biotinkonzentration von 1:100 000 000 000 kann eine deutlich zuwachsfördernde Wirkung verzeichnet werden. Die maximale Wirkung wird bei etwa 0,5 m γ pro ml erreicht, d. h. bei einer Verdünnung von 1:2 000 000 000.

Mit Bezug auf das gleichzeitige Bedürfnis von Vitamin B₁ scheint eine ähnliche Differenzierung vorzuliegen wie diejenige, die wir früher bei Kombinationsversuchen mit Vitamin B₁ und Ätherextrakt aus Hefe beobachtet haben (BJÄLFVE, NILSSON & BURSTRÖM 1938, 1939). Es wurde damals festgestellt, dass bei gewissen Stämmen von *B. radiculicola* der ätherlösliche Wachstumsfaktor allein für das Wachstum genügt, während andere eine gleichzeitige Zugabe von Vitamin B₁ erfordern. Biotin als Wachstumsfaktor wurde bisher an einem Stamm des ersten und zwei

Stämmen des zweiten Typus studiert. Es zeigte sich dabei, dass sich der erstgenannte Stamm mit Biotin allein als Wachstumsfaktor begnügt, während für das Wachstum der zwei letztgenannten Stämme eine gleichzeitige Zugabe von Vitamin B₁ erforderlich ist. Das von den reinen Wuchsstoffen hervorgerufene Wachstum erreicht etwa dieselbe Grösse wie das Wachstum in Ansätzen mit Hefeextrakt (etwa 1500 Millionen Bakterien pro ml).

Wenn es also als feststehend betrachtet werden darf, dass im Vegetationsversuch die Funktion des aus Hefe erhaltenen ätherlöslichen Prinzips durch Biotin übernommen werden kann, ist aber damit die Identität dieses Prinzips mit Biotin noch nicht einwandfrei bewiesen. Unsere Ergebnisse sprechen jedoch sehr dafür, dass das ätherlösliche, wachstumsfördernde Prinzip tatsächlich mit Biotin identisch ist. Erstens ist ja die Wirkungsidentität, so weit geprüft, eine vollständige. Ferner spricht dafür die grosse Stabilität von beiden Substanzen. Schliesslich ist ja die Hefe eine reiche Biotinquelle, und es liegt nichts unwahrscheinliches darin, dass unter den gegebenen Versuchsbedingungen das Biotin in kleiner Menge in Äther löslich ist.

Es fragt sich zum Schluss, inwieweit die zuwachsfördernde Wirkung des Hefeextrakts durch die kombinierte Wirkung von Vitamin B₁ und Biotin gedeckt wird. Der Hefeextrakt enthält ja beide Stoffe, und nach der vorliegenden Untersuchung ist dies, auch aus quantitativem Gesichtspunkt, ein genügender Grund zu dessen wachstumsfördernden Eigenschaften. In einer Hinsicht ist aber der Hefeextrakt den reinen Wuchsstoffen ausgesprochen überlegen, nämlich darin, dass nach Zugabe von Hefeextrakt das Wachstum sofort oder wenigstens sehr rasch einsetzt, während die durch die reinen Wuchsstoffe hervorgerufene Wachstumsförderung erst nach Ablauf einer beträchtlichen Induktionsperiode in Erscheinung tritt. Unsere Ergebnisse deuten aber darauf hin, dass die raschere Wirkung des Hefeextrakts nicht darauf beruht, dass dieser Extrakt einen weiteren wesentlichen Wuchsstoff enthält, sondern auf den Umstand zurückzuführen ist, dass im Extrakt vorfindliche Stickstoffver-

bindungen von den Bakterien leichter verwertet werden als KNO_3 , welches in dem synthetischen Medium die Stickstoffquelle ausmacht. In Übereinstimmung mit dieser Auffassung steht die Tatsache, dass in einem Medium mit Asparagin als Stickstoffquelle das Wachstum auch durch die reinen Wachstoffsstoffe rasch ausgelöst wird.

Für freigebige materielle Unterstützung sind wir der Stiftung »Wenner-Grenska Samfundet» zu grösstem Dank verpflichtet.

Sammanfattning.

Tidigare arbeten (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1938 b; BJÄLFVE, NILSSON & BURSTRÖM 1938, 1939) ha visat, att vitamin B_1 verkar som tillväxtfaktor för vissa stammar tillhörande klövergruppen av *B. radicicola*. Utom vitamin B_1 fordra bakterierna för sin tillväxt ytterligare en princip, vilken kan utvinnas ur jäst genom sur eterextraktion. I det vanliga syntetiska mediet framkallas genom samverkan av detta eterextrakt och vitamin B_1 en tillväxt, som till sin storlek är någorlunda jämförbar med den, som framkallas av nativa extrakt. Ur det sura eterextraktet erhöles slutligen i små mängder en vackert kristalliserande substans, som tydligen fortfarande innehöll eterextraktets aktiva princip (NILSSON, BJÄLFVE & BURSTRÖM 1939).

I den föreliggande undersökningen utvanns vid en större framställning den eterlösliga substansen i en sådan mängd, att den kunde omkristalliseras till konstant smältpunkt. Den sålunda erhållna, analysrena produkten identifierades genom elementaranalys och blandsmältpunkt med bärnstensyra.

Den på detta sätt ur jäst isolerade bärnstensyran uppförde sig i kombinationsförsök med vitamin B_1 ungefär som ett orent eterextrakt. Ett bärnstensyrepreparat från Schering-Kahlbaum »für analytische Zwecke» visade sig däremot vara inaktivt. Aktiviteten hos den av oss ur jäst erhållna bärnstensyran var så-

lunda sannolikt betingad av en högaktiv substans, vilken som förorening hårdnackat släpat med kristallerna genom de olika omkristallisationerna. Det ur jäst erhållna bärnstenssyrepreparatet underkastades därför högvakuumsublimation, varvid det sublimerade nästan kvantitativt. Den genom sublimering renade substansen visade sig i kombinationsförsök med vitamin B₁ vara inaktiv. Den vid sublimationen erhållna, ytterst obetydliga återstoden digererades med vatten, varvid den blott delvis gick i lösning. Filtratet verkade i kombination med vitamin B₁ starkt tillväxtbefordrande. En tydligt tillväxtbefordrande verkan erhöles sålunda med 0,05 γ per ml medium, medan 5 γ framkallade en bakterievegetation, till storleken jämförbar med den, som erhålles efter tillsats av nativa extrakt (ungefär 1400 millioner bakterier pr ml).

Efter de gjorda iakttagelserna förefaller det sannolikt, att vi här ha att göra med ett ämne, som är utrustat med en hög biologisk aktivitet. Av denna och andra anledningar (stabilitet, förekomst) syntes nu den möjligheten föreligga, att den aktiva principen i eterextraktet är identisk med Kögl's biotin. På grund härav anställdes försök över inverkan av biotin på tillväxten av *B. radiculicola* (jfr s. 317.)

Våra försök visa entydigt, att biotin verkar som tillväxtfaktor för *B. radiculicola*. Redan vid en biotinkoncentration av 1:100 000 000 000 är en tillväxtbefordrande verkan tydligt märkbar. Maximal verkan uppnås vid ungefär 0,5 in γ per ml, d. v. s. vid en biotinkoncentration av 1:2 000 000 000.

Med avseende på det samtidiga behovet av vitamin B₁ synes en liknande differentiering föreligga som den, vilken vi tidigare iakttagit i kombinationsförsök med vitamin B₁ och eterextrakt av jäst (BJÄLFVE, NILSSON & BURSTRÖM 1938, 1939). Vi funno nämligen då, att vid vissa stammar av *B. radiculicola* den eterlösliga tillväxtfaktorn ensam förmår att framkalla tillväxten, medan andra stammar behöva en samtidig tillsats av Vitamin B₁. Biotin som tillväxtfaktor har tillsvidare studerats på en stam av den första och två stammar av den andra typen. Det visade sig därvid, att den förstnämnda stammen nöjer sig med

endast biotin som tillväxtfaktor, medan för tillväxten av de två sistnämnda stammarna en samtidig tillsats av vitamin B_1 erfordras. Den av de rena tillväxtämnen framkallade tillväxten uppnår ungefär samma storlek som tillväxten i medier, vilka försatts med jüstextrakt (ungefär 1500 millioner bakterier per ml).

Om det alltså kan betraktas som fastslaget, att den ur jäst erhållna, eterlösliga principens funktion i vegetationsförsöken kan övertagas av biotin, så är därmed likväl identiteten av denna princip med biotin ännu icke slutgiltigt bevisad. Våra iakttagelser tala emellertid i hög grad för denna identitet. För det första är verkningsidentiteten, i den utsträckning, den hittills studerats, fullständig. För identiteten talar vidare den stora stabiliteten hos de båda substanserna. Slutligen innehåller ju jäst stora mängder biotin, och det förefaller icke osannolikt, att under de givna försöksbetingelserna biotin till en liten mängd går i lösning i eter.

Den fråga, som till slut uppställer sig, är i vad mån jästextraktets tillväxtbefordrande egenskaper kunna återföras på den kombinerade verkan av vitamin B_1 och biotin. Jüstextrakt innehåller ju båda dessa ämnen, och enligt den föreliggande undersökningen utgör detta faktum, även kvantitativt sett, en tillräcklig förklaringsgrund för dess tillväxtbefordrande verkan. I ett avseende är emellertid jästextraktet avgjort överlägset de rena tillväxtämnen. Efter tillsats av jüstextrakt inträder nämligen tillväxten genast eller i varje fall mycket snabbt, under det att den av de rena tillväxtämnen framkallade tillväxten uppträder först sedan en avsevärd induktionsperiod förflutit. Våra iakttagelser visa emellertid, att den snabbare verkan av jüstextraktet icke beror på att detta innehåller någon ytterligare, väsentlig tillväxtfaktor utan att den torde ha sin grund i att extraktet innehåller kväveföreningar, som bakterierna lättare kunna utnyttja än KNO_3 , som ju utgör kvävekällan i det syntetiska mediet. I överensstämmelse med denna uppfattning står vår iakttagelse, att i ett medium, som innehåller asparagin som kvävekälla, tillväxten utlöses snabbt även av de rena tillväxtämnen.

Literaturverzeichnis.

- ALLISON, F. E. & HOOVER, S. R., 1934. An accessory factor for legume nodule bacteria. — J. Bact., vol. 27, p. 561.
- BJÄLFVE, G. & NILSSON, R., 1938. Stroh als Nährboden für *Bact. radiculicola* und andere Mikroorganismen. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, vol. 5, S. 71.
- BJÄLFVE, G., NILSSON, R. & BURSTRÖM, DAGMAR, 1938. Vitamin B₁ als Zuwachsfaktor für *Bact. radiculicola*. III. — Naturwiss., Bd 26, S. 840.
- , 1939. Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiculicola*. IV. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, vol. 7, S. 291.
- NILSSON, R., 1937. Über den Gärungsmechanismus in der lebenden Hefezelle. — Arch. f. Mikrobiol., Bd 8, S. 353.
- , & ALM, F., 1936. Über die Loslösung des Zymasystems aus der Hefezelle durch Autolyse. — Zs. physiol. Chem., Bd 239, S. 179.
- NILSSON, R., BJÄLFVE, G. & BURSTRÖM, DAGMAR, 1938 a. Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiculicola*. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, vol. 5, S. 291.
- , 1938 b. Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiculicola*. II. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, vol. 6, S. 299.
- , 1939. Über Zuwachsfaktoren bei *Bact. radiculicola*. III. — Ann. Landw. Hochschule Schwedens, vol. 7, S. 51.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung	301
I. Isolierungsversuche an dem ätherlöslichen Zuwachsfaktor	303
Vorversuch	303
Hauptversuch	305
Identifizierung der ätherlöslichen, kristallisierenden Substanz .	310
Abtrennung der Bernsteinsäure von der aktiven Verunreinigung	312
II. Biotin als Zuwachsfaktor für <i>Bact. radiculicola</i>	317
III. Die Induktionsperiode bei dem Wachstum	322
Diskussion und Zusammenfassung	325
Sammanfattning	328
Literaturverzeichnis	331

Indian Agricultural Research Institute (Pusa)
LIBRARY, NEW DELHI-110012

This book can be issued on or before

Return Date	Return Date